Research Lab.

MIKROCHIMICA ACTA

R.H.A.C (A

HERAUSGEGEBEN VON / EDITORIAL BOARD / PUBLIÉ PAR
A. A. BENEDETTI-PICHLER - New York · G. BLIX - Uppsala
C. DUVAL - Paris · F. FEIGL - Rio de Janeiro · J. HEYROVSKÝ - Praha
P. L. KIRK - Berkeley · H. LIEB - Graz · F. A. PANETH - Mainz
R. STREBINGER - Wien · C. L. WILSON - Belfast
M. K. ZACHERL - Wien

MITHERAUSGEBER / ASSISTANT EDITORS / RÉDACTEURS ADJOINTS
E. ABRAHAMCZIK - Ludwigshafen/Rhein · H. K. ALBERT - Philadelphia
R. BELCHER - Birmingham · N. D. CHERONIS - New York
F. HECHT - Wien · W. KIRSTEN - Uppsala · A. LACOURT - Bruxelles
W. C. McCRONE - Chicago · A. L. THOMPSON - Montreal
PH. W. WEST - Baton Rouge · M. L. WILLARD - State College

SCHRIFTLEITUNG / EDITORIAL OFFICE / RÉDACTEUR EN CHEF
M. K. ZACHERL - Wien

FOR REFERENCE ONLY
RESEARCH LABORATORY
LIBRARY

1957
DRITTES UND VIERTES HEFT
HANS LIEB ZUM 70. GEBURTSTAG
MIT 112 TEXTABBILDUNGEN
ABGESCHLOSSEN AM 18. MAI 1957

II

WIEN
SPRINGER-VERLAG
1957

Mikrochim. Acta

Die Zeitschrift

„Mikrochimica Acta"

erscheint ab 1957 zu einem festen Jahresbezugspreis. Im Jahre 1957 wird ein Band von etwa 800 Seiten Umfang zum Jahresbezugspreis von S 660.—, DM 110.—, sfr. 113.—, $ 26.—, £ 9/7/- erscheinen. Der Band setzt sich aus 6 Heften zusammen, die in Abständen von etwa 2 Monaten herausgegeben werden.

Zur Veröffentlichung gelangen Originalarbeiten aus dem Gebiet der allgemeinen und angewandten Mikrochemie in deutscher, englischer und französischer Sprache, wenn sie nicht mehr als $1^1/_2$ Druckbogen umfassen. Die Reihenfolge der Veröffentlichung richtet sich im allgemeinen nach dem Datum des Eingangs der Manuskripte bei der Redaktion.

Für die Zeitschrift bestimmte Manuskripte aus USA. und Canada sind zu senden an:

Editors of „Mikrochimica Acta", Department of Chemistry, Queens College, Flushing, N. Y., USA. (Dr. A. A. Benedetti-Pichler and Dr. F. Schneider)

Sonstige Manuskripte in englischer Sprache sind zu senden an:

Dr. C. L. Wilson, Department of Chemistry, The Queen's University, Belfast

Manuskripte in französischer Sprache sind zu senden an:

Prof. Clément Duval, Laboratoire de Recherches micro-analytiques de l'E. N. S. C. P., 11, rue Pierre Curie, Paris, 5

Manuskripte in deutscher Sprache sind zu senden an:

Prof. Dr. M. K. Zacherl, Wien, I., Mölkerbastei 5

Geschäftliche Mitteilungen sind zu richten an:

Springer-Verlag, Wien, I., Mölkerbastei 5
Fernsprecher: 63 76 71 Serie, Telegrammadresse: Springerbuch Wien

Der Verlag

1957 Inhaltsverzeichnis 3.—4. Heft

Seite

Kainz, G., O. Polansky, E. Schinzel und **F. Wessely.** Über scheinbare Anomalien bei der Bestimmung des aktiven Wasserstoffs von Chinolacetaten 241

Gysel, H., und **K. Hamberger.** Die Mikro-Molekulargewichtsbestimmung gelöster Substanzen durch direkte Dampfdruckmessungen 254

Lacourt, A. Récents progrès dans la chromatographie quantitative sur papier 269

Kirsten, W. J. Microdetermination of Halogens. A Zinc Absorption Method 289

Berisso, B. Sobre nuevas reacciones microquímicas de la piperacina y del licetol y su aplicación microanalítica 296

Scheibl, Fr., und **R. Stöhr.** Beitrag zum Nachweis von E 605 in biologischem Material 306

Bürger, K. Über einen neuen mikrochemischen Nachweis des Silbers mittels 1-Rhodan-2,4-Dinitrobenzol 310

Bürger, K. Beitrag zur direkten mikroanalytischen Bestimmung des Sauerstoffes in organischen Verbindungen 313

Pohl, F. A., und **K. Kokes.** Die mikromaßanalytische und polarographische Bestimmung von Thalliumspuren 318

Duval, C. Etude des acides aminés sur une goutte de solution aqueuse par spectrographie infrarouge 326

Thompson, Jean K., and **C. L. Wilson.** Chemical Analysis on the Microgram Scale. V 334

Feigl, F., V. Gentil und **C. Stark-Mayer.** Beiträge zur organischen Tüpfelanalyse 341

Fortsetzung auf der III. Umschlagseite

Aus dem Mathematischen Laboratorium und dem Institut für anorganische und analytische Chemie (Mikroanalyse) der Technischen Hochschule Wien

Mathematisches zur kolorimetrischen Analyse mit dem Ringofen*

Von

Walter Knödel und **Herbert Weisz**

(Eingegangen am 6. Februar 1957)

Über die Durchführung semiquantitativer Analysen mit dem Ringofen wurde in dieser Zeitschrift bereits ausführlich berichtet[1, 2]. Bei diesem tüpfelkolorimetrischen Verfahren werden drei mittels des Ringofens[3] aus jeweils verschiedener Anzahl von Probetropfen hergestellte Proberinge mit einer Standardskala verglichen. So wird das Verhältnis der Konzentration der Probelösung zu der der Standardlösung, aus der die Ringe der Standardskala hergestellt wurden, ermittelt. Für Einzelheiten sei auf die früheren Publikationen verwiesen.

Es ist nun überraschend, daß dieses überaus einfache Verfahren ohne Zuhilfenahme optischer Geräte, also durch bloße Schätzung, brauchbare Resultate liefert. Die benötigte feste Probenmenge beträgt etwa 2 μg, der Analysenfehler kaum mehr als 5%.

Die Ringe der Standardskala werden aus 1, 2, 4, 6, 8, 10 Tropfen einer Standardlösung bekannter Konzentration hergestellt und als Nr. 1, 2, 4, 6, 8, 10 bezeichnet. (Selbstverständlich müssen Probetropfen und Standardlösungstropfen gleiches Volumen haben.)

Die Zuordnung der Proberinge zur Standardskala braucht nur sehr grob zu erfolgen, und zwar so, daß nur zu den einzelnen Ringen selbst oder zu deren halben Zwischenwerten zugeteilt werden muß; daher ergeben sich nur folgende Schätzungsmöglichkeiten: 1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. Wiewohl also nur ganze Zahlen (mit Ausnahme der 1,5-Werte) berücksichtigt werden, erhält man dennoch Resultate, die wesentlich genauer sind, als man zunächst erwarten würde.

Im folgenden sei eine einfache mathematische Erläuterung dazu gegeben:

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag ergebenst gewidmet.

Das gesuchte Verhältnis der Konzentration der Probelösung zu der der Standardlösung heiße α. Es sollen insgesamt n Ringe $R_1, R_2, \ldots, R_n$ aus $p_1, p_2 \ldots, p_n$ Tropfen hergestellt worden sein. Bei den einzelnen Vergleichen wurden als Nummern der entsprechenden Standardringe etwa die Zahlen $k_1, k_2, \ldots, k_n$ festgestellt. Dann sind die Zahlen — jede für sich — $k_1/p_1, k_2/p_2, \ldots, k_n/p_n$ Näherungswerte für α. Die Rechenvorschrift lautet aber (1): Man bilde

$$\beta = \frac{k_1 + k_2 + \ldots + k_n}{p_1 + p_2 + \ldots + p_n} \tag{1}$$

und β ist ein guter Näherungswert für α. Diese Behauptung wird sofort klar, wenn man β in folgender Weise umformt:

$$\beta = \frac{p_1 \cdot k_1/p_1 + p_2 \cdot k_2/p_2 + \ldots p_n \cdot k_n/p_n}{p_1 + p_2 + \ldots p_n}$$

Jetzt erkennt man, daß β nichts anderes ist als ein Mittelwert aus den Größen $k_1/p_1, k_2/p_2, \ldots, k_n/p_n$, die wir als Näherungswerte für die Konstante α erkannt hatten. Und zwar handelt es sich nicht um das gewöhnliche Mittel, sondern um ein sog. „gewogenes Mittel" mit den Gewichten $p_1, p_2, \ldots, p_n$. Aus der bekannten Tatsache, daß die Streuung eines Mittelwertes kleiner ist als die Streuung der zugehörigen Einzelmessungen, folgt, daß durch Auswerten von n unabhängigen Messungen gemäß Formel (1) ein besserer Näherungswert für α erhalten wird, als dies durch Berücksichtigung einer einzigen Messung möglich ist.

Zur Erläuterung mag die folgende Tabelle dienen: Nehmen wir an, daß n Proberinge mit aufeinanderfolgenden Tropfenzahlen 1, 2, ..., n hergestellt wurden, und daß der Messende diese in die Kategorien 1, 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 der Standardskala richtig einstufen kann, ohne genauer als ganze Zahlen bzw. 1,5 [illegible] zu müssen, was, wie die Praxis zeigt, mit bloßem Auge ohne weiteres möglich ist. Dann ergeben sich für verschiedene Konzentrationsverhältnisse die in der Tabelle angeführten Fehler. So bedeutet etwa bei Beispiel e „$\alpha = 1{,}4$" und Zahl der Proberinge $n = 5$: Es wurden 5 Ringe mit je 1, 2, 3, 4 und 5 Tropfen der Probelösung hergestellt und mit der Standardskala verglichen. Die Zahl am Schnittpunkt von $\alpha = 1{,}4$ und $n = 5$ entspricht dann dem theoretisch zu erwartenden relativen Fehler von 2%.

Die Tabelle zeigt, daß man bei Anwendung mehrerer Proberinge in allen Fällen auch bei nur grober Schätzung zu Resultaten kommen muß, die höchstens um 5% vom wahren Wert abweichen. Praktisch genügen dazu bereits 3 Proberinge, die allerdings so zu wählen sind, daß durch sie ein möglichst weiter Bereich der Standardskala umfaßt wird. So würde man bei Beispiel e etwa besser Ringe mit 1, 3 und 5 Tropfen und nicht mit 1, 2 und 3 Tropfen herstellen. Diese Verhältnisse in einer Tabelle

deutlich zu machen, diese individuellen von der jeweiligen Konzentration bestimmten Tropfenzahlen der Proberinge in einer einfachen Tabelle zu berücksichtigen, dürfte wohl kaum möglich sein.

Es wurde auch nur ein kleiner Bereich für α — 1,0 bis 3,2 — von der Tabelle umfaßt, der natürlich ohne weiteres beliebig erweitert werden könnte.

Tabelle 1

Nr.	α	Zahl der Proberinge n									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
a	1,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 %
b	1,1	— 9	— 9	— 9	— 9	— 3	0	1	1	1	—%
c	1,2	— 17	— 17	— 3	0	0	— 1	— 2	0	—	—%
d	1,3	15	15	9	4	5	5	3	—	—	—%
e	1,4	7	7	1	4	2	0	1	—	—	—%
f	1,5	0	0	5	3	5	3	—	—	—	—%
g	1,6	— 6	— 6	— 1	— 3	— 2	— 1	—	—	—	—%
h	1,7	— 12	— 12	— 7	— 3	0	—	—	—	—	—%
i	1,8	11	11	2	0	0	—	—	—	—	—%
j	1,9	5	5	5	5	5	—	—	—	—	—%
k	2,0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—%
l	2,2	— 9	— 9	— 1	0	—	—	—	—	—	—%
m	2,4	— 17	— 2	— 3	0	—	—	—	—	—	—%
n	2,6	15	3	3	—	—	—	—	—	—	—%
o	2,8	7	7	1	—	—	—	—	—	—	—%
p	3,0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—%
q	3,2	— 6	— 6	— 1	—	—	—	—	—	—	—%

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß die tüpfelkolorimetrische Methode brauchbare Resultate liefert, da mehrere (zumeist 3) Ringe, wenn auch nur grob geschätzt werden und die Ausrechnung des Analysenergebnisses nach der in der Mathematik wohlbekannten Methode des „gewogenen Mittels" erfolgt.

Zusammenfassung

Es wird gezeigt, daß die bereits früher beschriebene semiquantitative kolorimetrische Analyse mit dem Ringofen bei nur ungenauer Schätzung dennoch brauchbare Resultate erwarten läßt, da die Auswertung nach der Methode des gewogenen Mittels erfolgt.

Summary

It is shown that the semi-quantitative colorimetric determinations reported previously employing the ring oven with no more than inexact estimations nevertheless will probably yield usable results since the interpretation is by means of the weighted average.

Résumé

Les auteurs montrent que les estimations peu précises de l'analyse colorimétrique semi-quantitative fondée sur l'emploi du four annulaire permettent cependant d'obtenir des résultats utilisables car leur interprétation est effectuée par la méthode du «poids de la moyenne».

Literatur

[1] *H. Weisz*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 460, 785.
[2] *W. I. Stephen*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1540.
[3] *H. Weisz*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 140, 376; **1956**, 667.

Aus dem Mikroanalytischen Laboratorium der E. Merck A. G., Darmstadt

Beitrag zur Mikrobestimmung des Schwefels nach Zimmermann*

Von

A. Dirscherl

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 21. Februar 1957)

Die Mikrobestimmung des Schwefels auf der Basis des reduktiven Aufschlusses mit metallischem Kalium hat nach Überwindung der Mängel, die der ursprünglichen Methode nach *Bürger*[1] anhafteten, Eingang in zahlreiche mikroanalytische Laboratorien gefunden. Es gelang *Zimmermann*[2], die Fehlerquellen des *Bürger*schen Verfahrens klar aufzuzeigen und durch die Destillation des Schwefelwasserstoffes aus der Aufschlußlösung zu beseitigen; außerdem konnte er seine Methode im Lauf der Jahre weiter ausbauen, wobei sie durch das Wegfallen der Bremskapillare[3] an Einfachheit und Kürze gewann. Inzwischen haben auch andere Autoren zu seinem Verfahren Stellung genommen.

Bussmann[4] stellte fest, daß die Zersetzung des Kaliumaufschlusses mit Methanol nicht immer eine quantitative Destillation des mit Salzsäure aus der Aufschlußlösung in Freiheit gesetzten Schwefelwasserstoffes ermöglicht, und schlug deshalb vor, die Destillation ohne vorherige Zugabe von Methanol in einem kleinen Erlenmeyerkölbchen auszuführen. *Kirsten* und *Carstens*[5] fanden, daß die Methode sowohl in ihrer alten Ausführungsform mit Bremskapillare[2] als auch in ihrer neuen Form ohne Bremskapillare[3] unzuverlässige Resultate ergibt, wobei die Streuung mehrere Prozente beträgt. Die Kritik der beiden Autoren bezieht sich einerseits auf den Kaliumaufschluß, andererseits auf die Titration in ihrer neuen Ausführungsform. Sie finden bei der Destillation von Natriumsulfidlösung bekannten Gehaltes nach der alten Methode mit Bremskapillare richtige Werte, nach der neuen Methode aber zu hohe Werte. In einer Erwiderung stellt *Zimmermann*[6] fest, daß die Sulfidmengen, die bei *Kirsten* und

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag in Verehrung gewidmet.

Carstens zur Titration gelangten, diejenigen bei seinem Verfahren um etwa das Doppelte überschritten, so daß eine Diskussion über etwaige Fehlerquellen erst dann möglich sei, wenn die beiden Autoren ihrerseits sich an die von ihm vorgeschriebenen Maximalmengen an Schwefel (definiert durch den Oxydationswert von ~ 8 ml 0,02-n Kaliumjodat-Jodidlösung) hielten.

Wir konnten nun in Übereinstimmung auch mit anderen Autoren[7] feststellen, daß der Kaliumaufschluß in der von *Zimmermann* angegebenen Form einwandfrei arbeitet. Den zweiten Punkt der *Kirsten*schen Kritik, daß das neue Titrationsverfahren ohne Bremskapillare zu hohe Werte liefert, fanden wir bestätigt und konnten dies auch für die von *Zimmermann* vorgeschriebenen Sulfidmengen experimentell beweisen. Zur besseren Übersicht sei in Kürze nochmals die Methodik ohne Bremskapillare beschrieben.

Nach Beendigung der Destillation läßt man die mit Natriumacetat gepufferte Cadmiumsulfid-Acetatlösung in den mit neutraler Jodat-Jodidlösung (~ 8 ml 0,02-n Kaliumjodat) beschickten Titrationskolben abfließen. Man spült mehrmals mit dest. Wasser nach, schließt den Hahn und füllt die Vorlage mit der Reinigungsjodlösung, die aus ~ 10 ml dest. Wasser, ~ 1 ml 0,02-n Kaliumjodatlösung, Kaliumjodid und 20 Tropfen Salzsäure 1 : 1 besteht und oxydiert damit die letzten Reste von Cadmiumsulfid, die sich im Einleitungsrohr festgesetzt haben, wenn nötig unter weiterem Zusatz einiger Tropfen Salzsäure. Nun läßt man die Reinigungsjodlösung abfließen und säuert sofort mit 20 ml Salzsäure 1 : 1 an, spült quantitativ in den Kolben und titriert.

Zimmermann weist in seiner letzten Veröffentlichung darauf hin[6], daß das Ansäuern mit 20 ml Salzsäure 1 : 1 ohne Verzögerung erfolgen muß, damit das p_H der Lösung, das sich nach Zugabe der Reinigungsjodlösung in einem kritischen Bereich von $p_H \sim 5{,}5$ befindet, in dem unter Umständen Hypojoditbildung und damit Oxydation von Sulfid über die Stufe des elementaren Schwefels hinaus erfolgen könnte, möglichst rasch in das stark saure Gebiet abfällt, wo unkontrollierbare Oxydationsreaktionen nicht mehr auftreten und die Reaktion streng stöchiometrisch von S^{2-} zu S^0 verläuft. Wir konnten nun zeigen, daß selbst der ganz kurze Aufenthalt in diesem kritischen p_H-Bereich, wenn man die Lösungen nach den Angaben von *Zimmermann* unmittelbar hintereinander zugibt, den stöchiometrischen Ablauf im Sinne der angeführten Reaktion stört. Die Schwefelwerte fallen zu hoch aus.

Diese Fehlerquelle ist deshalb unkontrollierbar, weil die Acidität der Reinigungsjodlösung — sie enthält 20 Tropfen Salzsäure 1 : 1 und eine nicht definierte Säuremenge, die man noch zum Ablösen hartnäckig haftender Cadmiumsulfidteilchen vom Einleitungsrohr benötigt — nicht konstant ist; sie kann unter Umständen, wenn die Säuremenge so bemessen ist, daß jener ungünstige p_H-Bereich im Kolben nicht erreicht wird, auch verborgen bleiben.

Zur Ausschaltung der eben beschriebenen Störung schien es am zweckmäßigsten, die Reinigungsjodlösung erst nach dem Ansäuern zuzusetzen und damit das Durchlaufen des kritischen p_H-Bereiches auf Bruchteile von Sekunden abzukürzen. Um ein Lösen des Schliffes vom Titrationskolben hierbei zu vermeiden, ist der an der Absorptionsvorlage angeschmolzene Oberteil des Schliffkernes mit einem Einfüllstutzen versehen, der ein rasches Zufließenlassen der Säure ermöglicht (s. Abb. 1). Zum Zugeben der Säure verwendet man eine 20-ml-Meßpipette mit möglichst weitem Lumen oder sprengt eine zu enge Spitze einfach ab, so daß die Pipette in 2 bis 3 Sekunden ausläuft. Das Lumen des Einfüllstutzens muß so groß gewählt werden, daß es sich beim Zulaufen der Säure nicht verstopft.

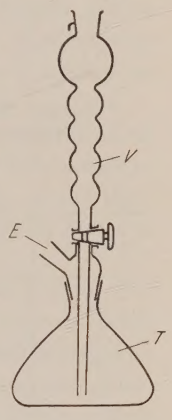


Abb. 1.
V Vorlage,
E Einfüllstutzen
T Titrationskolben

Um das Ausmaß der Fehler zu demonstrieren, die bei vorheriger Zugabe der Reinigungsjodlösung und nachfolgendem Ansäuern der Titrationslösung auftreten, wurde eine Serie von 20 Einwaagen hintereinander analysiert. Als Testsubstanzen wurden Thioharnstoff und Sulfanilsäureamid verwendet. Die Titrationen wurden so ausgeführt, daß der Zusatz der Reinigungsjodlösung wahlweise vor bzw. nach dem Ansäuern erfolgte. Hierbei wurden bei vorheriger Zugabe der Reinigungsjodlösung stets Überwerte gefunden. Eine Zusammenstellung der Ergebnisse ist in Tabelle 1 enthalten.

Weiters wurden 4 Einwaagen von Thioharnstoff analysiert und nach der Zugabe der Reinigungsjodlösung bis zu 3 Minuten mit dem Ansäuern gewartet. Das Ergebnis (Tabelle 2) zeigt deutlich den mit der Verweilzeit im kritischen p_H-Bereich ansteigenden Schwefelwert. Da jedoch der Säuregehalt der Reinigungsjodlösung, wie oben erwähnt, nicht konstant ist, darf man keine strenge Proportionalität erwarten.

Tabelle 1

Substanz	Einwaage in mg	ml 0,02-n Kaliumjodat	*	% S gef.	Δ %
T	4,488	5,88	nach	42,0	— 0,1
T	2,925	3,84	nach	42,1	0,0
T	3,240	4,31	vor	42,7	+ 0,6
S	4,144	2,41	nach	18,6	0,0
S	4,890	2,88	vor	18,9	+ 0,3
S	4,768	2,76	nach	18,6	0,0
T	3,478	4,73	vor	43,6	+ 1,5
T	2,942	3,85	nach	42,0	— 0,1
S	4,580	2,75	vor	19,2	+ 0,6

(Fortsetzung der Tabelle 1)

Substanz	Einwaage in mg	ml 0,02-n Kaliumjodat	*	% S gef.	Δ %
S	3,211	1,85	nach	18,5	— 0,1
T	3,436	4,60	vor	42,9	+ 0,8
T	3,353	4,41	nach	42,2	+ 0,1
T	3,208	4,24	nach	42,4	+ 0,3
T	3,211	4,21	nach	42,0	— 0,1
T	3,868	5,25	vor	43,5	+ 1,4
T	3,331	4,49	vor	43,2	+ 1,1
T	3,697	4,83	nach	41,9	— 0,2
S	4,969	2,95	vor	19,0	+ 0,4
S	4,751	2,73	nach	18,4	— 0,2
S	4,462	2,64	vor	19,0	+ 0,4

* Zugabe der Reinigungsjodlösung: *vor* oder *nach* dem Ansäuern.
S = Sulfanilsäureamid, T = Thioharnstoff.

Tabelle 2

Substanz	Einwaage in mg	ml 0,02-n Kaliumjodat	Wartezeit in Minuten	% S gef.	Δ %
T	4,294	5,75	0	42,9	+ 0,8
T	4,150	5,71	1	44,1	+ 2,0
T	2,948	4,13	2	44,9	+ 2,8
T	3,402	4,72	3	44,5	+ 2,4

T = Thioharnstoff.

In der im folgenden angegebenen *Arbeitsvorschrift*, die mit der von *Zimmermann* weitgehend übereinstimmt, soll noch auf einige erwähnenswert scheinende Punkte eingegangen werden.

Reagenzien

Es werden die von *Zimmermann* beschriebenen Reagenzien verwendet, die Lösungen werden genau nach seinen Angaben hergestellt.
Außerdem:
1. Stickstoff aus Stahlflaschen (an Stelle von Wasserstoff) als Treibgas[8].
2. Siliciumcarbid.
3. Schwefelsäure 1 : 3, p. a.
4. Stärkelösung nach *Ballczo* und *Mondl*[9].

Die Bestimmung erfolgt in der Originalapparatur nach *Zimmermann*.

Zum Aufschluß dienen die von *Zimmermann* angegebenen Röhrchen aus Jenaer Glas, die vor Gebrauch mit einem trockenen Wattewickel ausgewischt, sonst aber nicht weiter gereinigt werden. Nach dem Herunterschmelzen des Kaliums wird der Boden des Röhrchens auf dunkle Rotglut erhitzt, und nach dem Erkalten der Überdruck in bekannter Weise abgeblasen. Das Röhrchen wird hierauf, ohne es abermals in waagrechter Lage

auszuglühen, abgeschmolzen. Durch das von *Zimmermann* angegebene abermalige Durchglühen in horizontaler Lage verteilt sich das Kaliumsulfid gleichmäßig über die ganze innere Röhrchenwandung, was nach unseren Erfahrungen beim Anritzen und Absprengen zu Sulfidverlusten führen kann.

Für die sogleich oder auch später erfolgende Destillation wird das Röhrchen an der oberen Grenze des Kaliumringes angeritzt und mit der Hand abgebrochen. Der obere, kappenförmige Teil wird verworfen und nicht auf den unteren Teil als Trichter aufgesetzt, wodurch der anschließend erfolgende Säurezutritt erleichtert wird[4]. Die Zersetzung des überschüssigen Kaliums mit Methanol und die Destillation erfolgen genau nach der Vorschrift von *Zimmermann*. Zur Vermeidung von Siedeverzug beschickt man das Destillationsgefäß vorher mit einer kleinen Spatelspitze Siliciumcarbid.

Die mit einigen Tropfen Titantrichlorid versetzte Salzsäure 1:1 ist nach längerem unbenutzten Stehen der Apparatur durch frisch bereitete zu ersetzen. Vor Beginn einer Tagesserie ist es zweckmäßig, soviel Zersetzungssäure, wie für eine Destillation in etwa benötigt wird, aus der Vorratsflasche herauszudrücken und zu verwerfen.

Während der Destillation bereitet man im Titrationskolben in bekannter Weise die neutrale Kaliumjodat-Jodidlösung (Kaliumjodid setzt man in fester Form zu) und läßt nach Beendigung der Destillation den Inhalt der Vorlage (Cadmiumsulfid in Cadmiumacetat-Natriumacetatlösung) zu der im Kolben befindlichen Jodat-Jodidlösung abfließen. Man spült mit dest. Wasser gründlich nach, so daß der Titrationskolben schließlich zur Hälfte gefüllt ist, schwenkt zur gleichmäßigen Verteilung des Cadmiumsulfidniederschlages einige Male um, füllt die Vorlage mit der Reinigungsjodlösung und entfernt damit die letzten Reste Cadmiumsulfid aus dem Einleitungsrohr. Die oben beschriebene Verdünnung ist ungefähr einzuhalten, da aus einer zu konz. Lösung beim Ansäuern Spuren von Schwefelwasserstoff entweichen können. Die Resultate liegen dann erfahrungsgemäß an der unteren Fehlergrenze, also um etwa 0,3% zu niedrig.

Hierauf gibt man durch den Einfüllstutzen (s. Abb. 1) 20 ml Schwefelsäure 1:3 in einem Guß zu, schwenkt um und läßt durch Öffnen des Hahnes die Reinigungsjodlösung abfließen. Zum Ansäuern der Titrationslösung hat sich Schwefelsäure 1:3 der von *Zimmermann* angegebenen Salzsäure 1:1 in bezug auf Blindwertfreiheit überlegen erwiesen; sie läßt auch die Jodstärkereaktion deutlicher erkennen.

Man spült mit dest. Wasser nach und titriert den Jodüberschuß mit 0,02-n Thiosulfatlösung. Hierbei kann man die Titration meist ohne Wartezeit mit der 0,02-n Kaliumjodatlösung zu Ende führen, liest aber erst nach 7 Minuten den Bürettenstand ab, um den Nachlauf zu berücksichtigen. Innerhalb dieser Zeit tritt ein Nachbläuen der Lösung äußerst

selten auf, manchmal ist ein Verblassen der ersten blauen Jodstärkereaktion zu beobachten, das durch Zusatz weiterer 1 bis 2 Tropfen (0,02 bis 0,04 ml) 0,02-n Kaliumjodatlösung korrigiert wird. Die Berechnung der Resultate erfolgt in bekannter Weise.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn *Heinz Sigwarth* für experimentelle Hilfe herzlich zu danken.

Zusammenfassung

Bei der von *Zimmermann* für die Bestimmung des Schwefels beschriebenen Titrationsmethode ohne Bremskapillare können als Folge schon relativ kurzen Verweilens in einem für die Oxydation des Cadmiumsulfids zu elementarem Schwefel ungünstigen p_H-Bereich zu hohe Werte auftreten. Diese Fehlerquelle läßt sich durch Ansäuern vor der Zugabe der Reinigungsjodlösung ausschalten; der ungünstige p_H-Bereich wird hierbei so rasch durchlaufen, daß unkontrollierbare Oxydationsreaktionen nicht mehr auftreten. Kleine Änderungen der Arbeitsvorschrift werden vorgeschlagen.

Summary

In the titration method for determining sulfur described by *Zimmermann* without a retarding capillary, too high values may be obtained because of even relatively brief exposure to unfavorable p_H ranges during the oxidation of cadmium sulfide to elementary sulfur. This source of error can be averted by acidifying prior to adding the purifying iodine solution; the unfavorable p_H range is thus traversed so quickly that uncontrollable oxidation reactions no longer occur. Slight modifications of the procedure are proposed.

Résumé

Dans la méthode de titrage du soufre sans capillaire de freinage décrite par *Zimmermann*, il est possible d'obtenir des résultats erronés par excès du fait de l'existance d'un domaine de p_H défavorable pour l'oxydation du sulfure de cadmium en soufre élémentaire pendant un temps cependant relativement court. Cette source d'erreurs peut être éliminée par acidification avant l'addition de la solution d'iode qui sert au nettoyage du tube à dégagement d'hydrogène sulfuré. Dans ces conditions, le domaine de p_H défavorable est traversé si rapidement que les réactions d'oxydation non contrôlées n'ont plus le temps de se produire. L'auteur recommande quelques petites modifications au mode opératoire.

Literatur

[1] *K. Bürger*, Angew. Chem. **54**, 479 (1941); Chemie **55**, 245 (1942); **57**, 25 (1944).
[2] *W. Zimmermann*, Mikrochem. **31**, 15 (1943); **33**, 122 (1946).
[3] *W. Zimmermann*, Mikrochem. **35**, 80 (1950).
[4] *G. Bussmann*, Helv. Chim. Acta **33**, 1566 (1950).
[5] *W. Kirsten* und *C. Carstens*, Analyt. Chim. Acta **5**, 272 (1951).
[6] *W. Zimmermann*, Mikrochem. **40**, 162 (1953).
[7] *G. Kainz* und *A. Resch*, Mikrochem. **39**, 75 (1952).
[8] *W. Schöniger*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 74.
[9] *H. Ballczo* und *G. Mondl*, Mikrochem. **36/37**, 997 (1951).

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck

Zur Identifizierung der Lokalanästhetica*

Von

M. Brandstätter-Kuhnert und **H. Grimm**

(Eingegangen am 14. Februar 1957)

Neben den schon seit langem verwendeten Lokalanästheticis wurde in den letzten Jahren eine Reihe neuer Verbindungen in die Medizin eingeführt, die verschiedenen chemischen Körperklassen angehören. Für diese Stoffe sind wohl im einzelnen Identitätsreaktionen bekannt, jedoch fehlt die Behandlung der ganzen Gruppe nach einheitlichen Gesichtspunkten. Wir machten es uns daher zur Aufgabe, möglichst viele Lokalanästhetica (L. A.) in einem Identifizierungsgang zusammenzufassen, wobei die älteren Präparate, die noch in Verwendung stehen und die bereits früher von *R. Fischer* und Mitarbeitern[1] in diesem Sinne bearbeitet wurden, mit einbezogen werden sollten.

Da die Stoffe für die Untersuchung in der Regel erst isoliert werden müssen und die Gewinnung kristallisierter Salze oder Basen vielfach nicht möglich ist, wird das Hauptgewicht auf die Herstellung von Derivaten gelegt, deren Schmelzpunkte nach *Kofler*[2] bestimmt werden; die Identifizierung der Reinsubstanzen soll mehr der Vollständigkeit halber Berücksichtigung finden.

Von den zahlreichen Reagenzien, die als Fällungsmittel für L. A. bekannt sind, wählten wir Verbindungen aus, die entweder mit möglichst vielen L. A. kristallisierte Derivate liefern (Anthrachinon-β-sulfonsäure) oder deren Derivate gut reproduzierbare Schmelzpunkte besitzen (Pikrinsäure, Styphninsäure). Da ein Teil der L. A. mit diesen Stoffen nicht reagiert, mußten noch zwei weitere Reagenzien herangezogen werden (Flaviansäure und Diliursäure).

---

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

Arbeitsmethode

Die isolierte Base[1,3] oder das Salz des L. A. wird auf dem Objektträger in einem Tropfen Wasser oder Weinsäure (5%) gelöst und ein bis zwei Tropfen der Reagenslösung zugefügt. Dabei sind folgende Fälle zu unterscheiden:

1. Es tritt ein kristallisierter Niederschlag auf, der sogleich ausgewaschen werden kann.
2. Es entsteht ein amorpher Niederschlag oder ein Niederschlag in Form von Tröpfchen, die beide erst zur Kristallisation gebracht werden müssen.
3. Es fällt nichts aus und die Lösung bleibt klar.

Bei Fall 2 wird zuerst durch Reiben mit einem Glasstab und dann durch gelindes Erwärmen versucht, die Kristallisation anzuregen. Bleibt das erfolglos, dann wird so weit erhitzt, nötigenfalls unter Zusatz von Wasser, bis die Fällung in Lösung geht und während des Abkühlens wieder gerieben. Dabei können am Rande des Tropfens durch örtliche Übersättigung Kristalle ausfallen, die mit dem Glasstab als Keime im Tropfen verteilt werden. Zu beachten ist, daß bei starker Verdunstung auch das Reagens ausfallen kann. Treten noch keine Kristalle auf, so wird der Objektträger mit der Fällung bis zu 24 Stunden in eine feuchte Kammer gestellt.

Wenn die Lösung nach dem Reagenszusatz klar geblieben ist (Fall 3), dann werden der Reihe nach Reiben mit einem Glasstab, Erwärmen und darauffolgendes Reiben sowie Aufbewahren in einer feuchten Kammer angewendet. Tritt nach Anwendung dieser Hilfsmittel keine Kristallisation ein, dann ist die Fällung als nicht kristallisiert in die Tabelle eingetragen.

Die Kristalle werden mit einem Deckglas bedeckt und mit Hilfe eines angelegten Filtrierpapierstreifens die Waschflüssigkeit (Wasser oder 20%iger Alkohol) durchgesaugt[1]. Dieser Vorgang kann unter dem Mikroskop beobachtet werden, was besonders für lösliche Fällungen wichtig ist, um den Waschvorgang rechtzeitig zu beenden. Die Waschflüssigkeit wird soweit als möglich abgesaugt und die Kristalle getrocknet. Das Trocknen kann an der Luft, im warmen Luftstrom oder auf einer mäßig erwärmten Heizplatte, z. B. dem unteren Ende der Kofler-Heizbank, geschehen. Die Waschflüssigkeit kann auch mit einer plangeschliffenen Pipette durch ein dreieckiges Filtrierpapierfleckchen abgesaugt werden[4].

Der nach diesem einfachen Verfahren erhaltene Reinheitsgrad der Fällungen ist verschieden. Er hängt von der Art der Fällung ab; bei verfilzten Nadeln oder faserigen Aggregaten ist der Reinigungseffekt am geringsten. Bei löslichen Niederschlägen muß das Auswaschen vorzeitig abgebrochen werden und in beiden Fällen werden größere Schmelzintervalle gefunden.

In der Tabelle sind die äußeren Grenzen angegeben, zwischen denen bei mehreren Parallelversuchen Schmelzen beobachtet wurde. Daher ist das Schmelzintervall bei einem einzelnen Versuch oft geringer, fällt aber in die angegebenen Bereiche hinein. Neben der mangelnden Reinheit ist manchmal auch Schmelzen unter Zersetzung die Ursache für größere Intervalle.

Als Schmelzbeginn wurde nicht, wie das für Reinsubstanzen üblich ist, das Auftreten der ersten Tröpfchen betrachtet, da gelegentlich Teile, die noch mit Fällungsmittel behaftet sind, vorzeitig schmelzen, sondern die Tropfenbildung. Das Schmelzende ist durch das Verschwinden der letzten Kristallreste gekennzeichnet. Wird das Schmelzende im polarisierten Licht zwischen gekreuzten Nicols beobachtet, so liegen die Temperaturen gelegentlich etwas höher. Dies ist damit zu erklären, daß in den gefärbten Schmelzen die letzten Kristallreste schwer zu erkennen sind, die doppelbrechenden Kristalle im polarisierten Licht aber noch als kleinste Partikel hell aufleuchten.

Die Bestimmung der Schmelzpunkte im Gleichgewicht[2] konnte wegen der häufigen Zersetzung, die das Gleichgewicht rasch absinken läßt, und der Trägheit vieler Derivate bei der Kristallisation aus der Schmelze nur selten vorgenommen werden. Deshalb sind an Stelle von Schmelzpunkten Schmelzintervalle angegeben. Auf die Angabe eutektischer Temperaturen mit Testsubstanzen wurde verzichtet, da sie bei Derivaten mit ähnlichen Schmelzpunkten häufig zu nahe beisammen liegen, um von entscheidendem Wert zu sein.

Reagenzien

Anthrachinon-β-sulfonsaures Natrium (Schuchardt, München) wurde durch Umkristallisieren aus Wasser gereinigt. Als Reagens wurde eine 1%ige wäßrige Lösung verwendet.

Dilitursäure (5-Nitrobarbitursäure) stand in zwei Präparaten zur Verfügung. Das Präparat von Schering & Kahlbaum zersetzte sich bei 179 bis 186°, während ein Präparat von Merck, Darmstadt, ein Zersetzungsintervall von 174 bis 181° besaß. Verwendet wurde eine gesättigte wäßrige Lösung.

Flaviansäure (2,4-Dinitro-1-naphthol-7-sulfonsäure) (Schuchardt, München) wurde aus Wasser umkristallisiert und besaß ein Zersetzungsintervall von 180 bis 190°. Als Reagens diente eine 1,5%ige Lösung in 20%igem Alkohol.

Pikrinsäure (Merck, Darmstadt) schmolz bei 121,5°. Das Reagens bestand aus einer gesättigten Pikrinsäurelösung in 20%igem Alkohol.

Styphninsäure schmolz bei 165°, das bedeutet, daß sie in der instabilen Form vorlag[5], erst nach der Umwandlung konnte der Schmelzpunkt von 176,5° erhalten werden. Es wurde eine gesättigte Lösung in 20%igem Alkohol verwendet.

Tabelle 1. Schmelzpunkte der Derivate

Substanzen	Anthrachinonsulfonate		Flavianate °C	Styphnate °C	Pikrate °C	Diliturate °C
	Farbe	°C				
Falicain		75—80	174—178	123,5—127	150—154	85—89
Salicain	rot	III 80- 90	176 181	mono I 144—147 II 97—102 di I 128—134 II 70—75	149—151	198—203 bis 208
Novesin	rot	III 83—90	86—92	79—84	—	—
Surfacain		87—92	156- 163	—	—	182—187
Hostacain		103—107	207—212	—	149—152	288—295
Quotane		115—120	142—148	124—127	120—123,5	197—203
S 886	rot	124—128	163—168 87—93	120,5—123,5	II 110—112 I 121—124	111—114
S 650	rot	125—128	183—190	123—125	144—146	198—206
Salicain+	rot	II 124—129				
Novesin+	rot	II 120—130				
Pantocain	rot	127- 135	180—184	143—147	103—117	174—178
Tronothane		129—134	135—145	134—136	—	178- 180
Psicain neu		130- 140	96- 105	—	—	135—142
Stovain		135—140		II 127—129 I 141—142	112—115,5	—
Nupercain		147- 151	III 90—94 II 103—114 I 149 153	—	—	—

Cornecain	rot	bis 160	99—101	94—100	120—126	—
Salicain+	rot	I 163—164				
Novesin+	rot	I 163—170				
Alypin		175—181	190—195	mono 164—165 di 204—207	mono 130—134 di 185—190	185—195
Novocain		178 181	207—211	159 163	mono 130- 134 di 150—152	210—218
Metycain		182 185	168—173	II 112—115 I 129—134	118—122	—
Oxycain		211—215	204—207	215—220	192—196	210—221
Chlorprocain		218—222	204—209	149—153	144—148	199—205
Anästhesin		bis 280 Zersetzung	224 230	167—173	II 125—129 I 159—160	204—207
Eucain		294—297	245 253	230—233	228—231	290—310
Butesin		310—315 Zersetzung	240—250	III 96—100 II 105—110 I 121—127	-	215—221
Cycloform		250 330	210 225		169—174	bis 330
Butyn		—	93—101	—	—	199—206
Larocain		—	135—147	147—151	164—166	—
Panthesin			180—197	—		—
Xylocain				199—204	217—227	
Holocain				—	—	129—132

Erläuterung der Tabelle 1

In der Tabelle 1 sind die L. A. nach ansteigenden Schmelzpunkten der Anthrachinonsulfonate geordnet. In den folgenden Spalten werden die Schmelzpunkte der Flavianate, Styphnate, Pikrate und Diliturate angeführt. An Hand dieser Tabelle kann nun, ausgehend vom Schmelzpunkt des Anthrachinonsulfonates, festgestellt werden, welche weiteren Derivate zur Identifizierung einer Verbindung zweckmäßig sind. Obwohl gerade bei den Anthrachinonsulfonaten die Schmelzintervalle besonders groß sind, ist dieses Reagens zur Orientierung besonders geeignet, da es den Vorteil hat, mit vielen L. A. zu reagieren und einige schön gefärbte (rot oder orange) Derivate zu bilden. Naturgemäß kann die Tabelle auch auf ein anderes Reagens eingestellt werden.

Bei der Untersuchung der Schmelzpunkte der Derivate ergaben sich in manchen Fällen ungewöhnlich große Differenzen, für die zwei Erklärungen möglich waren. Es konnte sich um das Auftreten zweier Molekülverbindungen mit verschiedener Zusammensetzung oder um das Auftreten polymorpher Formen handeln[1]. Für die Anthrachinonsulfonate wurden auch die Schmelzpunkte der instabilen Modifikationen in die Schmelzpunkttabelle eingereiht, sodaß einige Substanzen mehrmals aufscheinen. Ein $^{+}$ weist darauf hin, daß die Substanz schon weiter oben angeführt ist, wo auch die Schmelzpunkte der übrigen Derivate zu finden sind.

Kurze Monographien der L. A.

Alypin (Amydricain); 2-Dimethylaminomethyl-1-dimethylamino-2-butanolbenzoesäureester.
Alypinhydrochlorid: Fp. 170° [2]; Alypinnitrat: Fp. 163,5° [2].
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Bayer, Leverkusen.
Anthrachinonsulfonat: Aus schwach getrübter Lösung kristallisieren wetzsteinförmige Nadeln und Nadelbüschel. Fp. 175 bis 181°.
Diliturat: Nach einiger Zeit kristallisieren Rechtecke und Körner aus. Fp. 185 bis 195°.
Flavianat: Erst im Verlauf eines Tages treten dunkle Aggregate auf, die aber auch ausbleiben können. Fp. 190 bis 195°.
Pikrat: Dipikrat: Mit Reagensüberschuß zuerst amorph, dann kleine Nadeln und Blättchen. Fp. 185 bis 190°.
Monopikrat: Rechteckige und rhombische Kristalle. Fp. 130 bis 134°.
Eutektische Temperatur zwischen Mono- und Dipikrat: 126 bis 127° [1].
Styphnat: Distyphnat: Mit Reagensüberschuß Drusen, fiederförmige Kristalle, hellgelb. Fp. 204 bis 207° [1].
Monostyphnat: Flache, unregelmäßige, dunkelgelbe Kristalle. Fp. 164 bis 165° [1]. Eutektische Temperatur zwischen Mono- und Distyphnat: 164°.

Anästhesin (Benzocaine, Anesthesin, Äthylaminobenzoat U. S. P., Aethylum-para-aminobenzoicum); 4-Aminobenzoesäureäthylester.
Anästhesin: Fp. 90,5° [2], Anästhesin-hydrochlorid: Fp. 195° [6].
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Bayer, Leverkusen.

Anthrachinonsulfonat: Die Fällung besteht aus Nadelbüscheln. Fp. 280°, Zersetzung.
Dilitural: Zuerst klar, erst auf Reiben fallen lange derbe Nadeln und Nadelbüschel aus. Fp. 204 bis 207°, Zersetzung.
Flavianat: Nach kurzer Zeit große Sphärolithe aus feinen Nadeln. Fp. 224 bis 230°, Zersetzung.
Pikrat: Fp. I 159 bis 160°, Fp. II 125 bis 129°.
Bei Mikrofällungen auf dem Objektträger entstehen meist Kristalle der instabilen Form. Auch in der Literatur wird mit einer Ausnahme[10] meist dieser Wert angegeben[7–9]. Zur Klärung der Verhältnisse wurden Fällungen und Kontaktpräparate untersucht[11].
Styphnat: Fp. 167 bis 173°. Bei den Fällungen muß beachtet werden, daß in saurer Lösung öfter Styphninsäurekristalle ausfallen, deren Schmelzpunkt nahe bei dem der Molekülverbindung liegt.
Bei Untersuchungen im Kontaktpräparat wurde das Auftreten einer zweiten dimorphen Molekülverbindung beobachtet, die inhomogen schmilzt. Aus ihrer Schmelze fallen Kristalle der Molekülverbindung mit dem Fp. 167 bis 173° aus[11].

Butesin (Buthesin, Butyl-aminobenzoat U. S. P. Butoform, Scuroform); 4-Aminobenzoesäure-n-butylester.
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Abbott Labs., North Chicago. Butesin: Fp. 58°. Butesin-hydrochlorid: Fp. 187°[6].
Anthrachinonsulfonat: Aus der klaren Lösung kristallisieren nach Reiben kleine Drusen. Fp. 310 bis 315°, Zersetzung.
Dilitural: Aus der klaren Lösung kristallisieren rasch Nadeln und Nadelbüschel. Fp. 215 bis 221°, Zersetzung.
Flavianat: Erhitzen und Reiben bringt nach einiger Zeit Rechtecke, verwachsene Blättchen und Spieße hervor. Fp. 240 bis 250°.
Pikrat: Kein Niederschlag.
Styphnat: Fp. I 121 bis 127°, II 105 bis 110°, III 96 bis 100°. Nach längerem Reiben entstehen Kristalle mit wechselndem Aussehen und verschiedenen Schmelzpunkten. Entweder finden sich in den Fällungen kleine dicht gelagerte Nadeln oder Rosetten aus flachen Kristallen, deren Fp. 96 bis 100° beträgt. Daneben oder in anderen Fällungen wurden Rechtecke, Stengel oder Prismen mit lebhaften Interferenzfarben erhalten, die bei 121 bis 127° schmelzen. Untersuchungen im Flächenpräparat und Kontaktpräparat ergaben das Vorliegen von drei Modifikationen[11].

Butyn-sulfat (Butyn, Butacaine-sulfat); 4-Aminobenzoesäure-di-n-butylaminopropylester-sulfat.
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Abbott Labs., North Chicago. Butyn-sulfat: Fp. 101,5°. Butacaine-hydrochlorid: Fp. 151°[6,12,13]. Butynbase: Fp. 32 bis 33,5°.
Anthrachinonsulfonat: Nur schwache Trübung, Tropfen.
Dilitural: Erst nach mehreren Stunden kristallisieren Bündel feiner Nadeln aus. Fp. 199 bis 206°.
Flavianat: Nach Erhitzen und Reiben entstehen Nadeln und Nadelbüschel in Kreuzform oder Hanteln mit verzweigten Enden. Fp. 93 bis 101°.
Pikrat: Tropfen, amorph.
Styphnat: Tropfen.

2-Chlorprocain; 4-Amino-2-chlorbenzoesäure-β-diäthylaminoäthylesterhydrochlorid.

Chlorprocain-hydrochlorid: Fp. 172,5°.
Verwendet wurde ein Präparat des VEB Leuna-Werk „Walter Ulbricht" in Jena.
Anthrachinonsulfonat: Nach Erhitzen und Reiben bilden sich langsam Nadelbüschel und Prismen (die ab 180° Tropfen bilden). Fp. 218 bis 222°.
Dilituratː Binnen einer Stunde bilden sich in der klaren Lösung Drusen und zusammengesetzte rechteckige Kristalle. Fp. 199 bis 205°, Zersetzung.
Flavianat: Die anfangs getrübte Lösung wird wieder klar. Es bilden sich Nadelbüschel und Nadeln. Fp. 204 bis 209°.
Pikrat: Zunächst Tropfen, dann rhombische und prismatische Kristalle. Fp. 144 bis 148°.
Styphnat: Die anfangs amorph-flockige Lösung kristallisiert in Form zarter, fadenartiger Kristalle. Fp. 149 bis 153°.

Cornecain; 4-Propylaminobenzoesäure-γ-dimethylamino-β-oxypropylesterhydrochlorid.
Cornecain-hydrochlorid: Fp. 135,5 bis 136°. Cornecain-base: Fp. 78°.
Verwendet wurde ein Präparat der Farbwerke Höchst.
Anthrachinonsulfonat: Zuerst entsteht ein orangeroter flockiger Niederschlag, nach Erwärmen bilden sich zarte Nadeln und Drusen. Fp. bis 160°. Der Schmelzbereich ist lang und unscharf.
Dilituratː Die Lösung bleibt klar.
Flavianat: Erst nach langem Stehen dunkle sphärische Aggregate. Fp. 99 bis 101°.
Pikrat: Hellgelbe Nadeln. Fp. 120 bis 126°.
Styphnat: Gelbe Nadeln und Nadelbüschel. Fp. 94 bis 100°. In der Schmelze bleiben doppelbrechende Körner, die bis 125° schmelzen.

Cycloform (Isocain, Isobutyl-p-aminobenzoat); 4-Aminobenzoesäureisopropylester. Das Präparat stammt von Curta & Co., Berlin.
Cycloform: Fp. 65°.
Anthrachinonsulfonat: In kurzer Zeit Drusen. Schmelzen unter Zersetzung von 250 bis etwa 330°.
Dilituratː Kleine Drusen, die bis 330° nicht schmelzen.
Flavianat: Sphärolithe aus dünnen Kristallen. Fp. 210 bis 225°, Zersetzung.
Pikrat: Nur träge Kristallisation zu breiten Balken. Fp. 169 bis 174°.
Styphnat: Keine Kristallisation.

Eucain (Benzamine-hydrochlorid, Betacaine-hydrochlorid, Betaeucaine); 4-Benzoyloxy-2,2,6-trimethyl-piperidin-hydrochlorid.
Eucain-hydrochlorid: Fp. 275 bis 278° [2]. Eucain-base: Fp. 69 bis 71°.
Anthrachinonsulfonat: Zunächst Tropfen, dann Drusen und Rosetten aus Nadeln mit verzweigten Enden. Fp. 294 bis 297°.
Dilituratː Kleine Körner. Fp. 290 bis 310°, Zersetzung.
Flavianat: Erst nach einigen Stunden kristallisieren Körner und kleine Drusen. Fp. 245 bis 253°.
Pikrat: Reiben führt zum Auftreten von Blättchen und Prismen. Fp. 228 bis 231°.
Styphnat: Fp. 230 bis 233°. Kristallisiert nicht immer[1].

Falicain; Piperidino-äthyl-4-propoxyphenylketon-hydrochlorid.
Falicain-hydrochlorid: Fp. 157 bis 164°.
Verwendet wurde ein Präparat der VEB Fahlberg List, Magdeburg.

Anthrachinonsulfonat: Sofort flockiger Niederschlag, der Körner und verzweigte Nadeln bildet. Fp. 75 bis 80°.
Diliturat: Es kristallisieren Drusen und Prismen aus. Fp. 85 bis 89°. Aus der Schmelze scheiden sich erneut Kristalle unter Gasblasenentwicklung ab, über 200° Braunfärbung und Schmelzen unter Zersetzung bei 245 bis 260°.
Flavianat: Tropfen, werden zu Nadeln oder breiten Kristallflächen. Fp. 174 bis 178°.
Pikrat: Aus den Tropfen werden lange Nadeln und Spieße. Fp. 150 bis 154°.
Styphnat: Zuerst Tropfen, erst nach längerer Zeit zarte Nadeln. Fp. 123,5 bis 127°.

Holocaine (Phenacaine-hydrochlorid); Äthenyl-p-diäthoxy-diphenyl-amidine.
Holocaine-hydrochlorid: Fp. 185 bis 193°. Holocaine-base: Fp. 115 bis 116°. Die Base kann auch auf dem Objektträger ausgefällt werden. Nach Reiben und Kühlen kristallisieren Blättchen und Nadeln, die ausgewaschen werden. Verwendet wurde ein Präparat der Firma Abbott Labs., North Chicago.
Anthrachinonsulfonat: Amorph und Tropfen.
Diliturat: Aus der klaren Lösung kristallisieren leicht Nadelbüschel und Drusen aus breiten Blättchen. Fp. 129 bis 132°.
Flavianat: Tropfen und amorph.
Pikrat: Tropfen und amorph[1].
Styphnat: Tropfen und amorph[1].

Hostacain; n-Butylaminoessigsäure-2-methyl-6-chloranilid-hydrochlorid.
Hostacain-hydrochlorid: Fp. 230 bis 234°. Hostacain-base: Fp. 41,5°. Verwendet wurde das Präparat der Farbwerke Hoechst.
Anthrachinonsulfonat: Erst in 1 bis 2 Tagen kristallisieren Nadeln aus der schwach getrübten Lösung. Fp. 103 bis 107°.
Diliturat: Körner. Fp. 288 bis 295°, Zersetzung.
Flavianat: Rosetten. Fp. 207 bis 212°.
Pikrat: Zuerst klar, nach Erwärmen Nadeln und Nadelbüschel. Fp. 149 bis 152°.
Styphnat: Keine Reaktion.

Larocain; 4-Aminobenzoesäure-β,β-dimethyl-γ-diäthyl-aminopropylester-hydrochlorid.
Larocain-hydrochlorid: Fp. 197 bis 199° [2]. Larocain-base: Fp. 54° [2]. Verwendet wurde ein Präparat der Firma Hoffmann La Roche, Basel.
Anthrachinonsulfonat: Keine Reaktion.
Diliturat: Keine Reaktion.
Flavianat: Erst nach Kühlen und Reiben feine Nadelbüschel, die beim Auswaschen leicht in Lösung gehen. Fp. 135 bis 147°.
Pikrat: Längeres Stehen und Reiben ergibt sternförmige Blättchen, selten Nadeln. Fp. 164 bis 166° [1].
Styphnat: Zuerst Tröpfchen, dann kleine, quadratische, verwachsene Kristalle. Fp. 147 bis 151°.

Metycaine (Piperocaine, Neothesin); 3-(2-Methylpiperidinopropylbenzoat-hydrochlorid.
Metycaine-hydrochlorid: Fp. 173° [2].
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Eli Lilly & Co., Indianapolis.
Anthrachinonsulfonat: Zuerst flockige Fällung, dann Drusen. Fp. 182 bis 185°.
Diliturat: Keine Reaktion.

Flavianat: Zuerst amorphe Fällung, dann wetzsteinförmige Kristallnadeln und Nadelbüschel. Fp. 168 bis 173°.
Pikrat: Zarte Nadeln und gelbe, verzweigte, fadenartige Kristalle. Fp. 118 bis 122°.
Styphnat: Nadeln und Drusen. Fp. II 112 bis 115° und I 129 bis 134°. Bei einzelnen Fällungen treten zarte Nadeln oder Sphärolithe (Mod. II) neben prismatischen Kristallen der stabilen Form auf. Nach Erreichen des Schmelzpunktes der Mod. II bei 112° bleiben kleine Körner in der Schmelze, die zu Prismen und schiefwinkeligen Kristallen heranwachsen.

Novocain (Procain, Kerocaine, Planocaine, Sericaine, Atoxicain, Ethocaine, Neocaine, Syncaine, Procainum hydrochloricum); 4-Aminobenzoesäure-β-diäthylaminoäthylester-hydrochlorid.
Novocain-hydrochlorid: Fp. 156° [2]. Novocain-nitrat: Fp. 103° [2]. Novocain-borat: Fp. 163 bis 166° [12]. Novocain-base: Fp. 61,5°.
Verwendet wurde ein Präparat der Farbwerke Hoechst.
Anthrachinonsulfonat: Aus der klaren Lösung fallen derbe, dunkle Körner und Aggregate aus. Fp. 178 bis 181°.
Dilitурat: Lange zarte Nadeln. Fp. 210 bis 218°, Zersetzung. Sie werden von *M. Hädicke*[14] zur Unterscheidung von Chlorprocain verwendet. Auch mit den anderen L. A. bilden sich keine ähnlichen Nadeln aus.
Flavianat: Es kristallisieren Nadelbüschel. Fp. 207 bis 211°.
Pikrat: Nach Reiben hellgelbe Nadeln. Dipikrat: Fp. 150 bis 152° [1]. Monopikrat: Schlecht kristallisierende Stäbchen, Körner oder Plättchen. Fp. 130 bis 134° [1]. Schmelzbeginn des Gemisches 130°.
Styphnat: Tropfen, beim Erwärmen und Reiben federförmige Kristalle und verzweigte Plättchen. Fp. 159 bis 163° [1].

Novesin (Butoxyprocain, Dorsecain, Benoximat); 4-Amino-3-n-butoxybenzoesäure-β-diäthylaminoäthylester-hydrochlorid.
Novesin-hydrochlorid: Fp. 158 bis 159°.
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Dr. Wander, Wien.
Anthrachinonsulfonat: Aus der schwach getrübten Lösung kristallisieren rötliche Nadeln und Drusen. Fp. I 163 bis 170°, II 120 bis 130°, III 83 bis 90°. Bei 80 bis 90° Schmelzbeginn, doch bleibt ein kleiner Anteil doppelbrechender Nadeln bis 115° in der Schmelze erhalten. Daneben kristallisiert bei steigender Temperatur die stabile Form als dunkelrote Nadeln und Nadelbüschel aus, sofern diese Form nicht schon aus der Lösung ausfiel. Die Schmelztropfen erstarren vollkommen und schmelzen nun bei 160 bis 170° (meist 165 bis 170°). Aus der Lösung kristallisierte Mod. III besteht aus breiten roten Kristallen und breitzackigen Drusen. Die stabile Form besteht aus langen, zarten Nadeln. Daneben kommen Fällungen mit orangeroten, dünnen Nadeln oder Sphärolithen vor, die bei 120 bis 130° schmelzen. Auch in dieser Schmelze bilden sich dunkelrote Drusen, die bis 160° schmelzen.
Flavianat: Tropfen, nach Erwärmen und Reiben dünne Nadeln und Nadelbüschel. Fp. 86 bis 92°.
Dilitурat: Tropfen und amorph.
Pikrat: Tropfen und amorph.
Styphnat: Anfangs amorph, nach einigen Stunden rotbraune Nadeln und Nadelbüschel. Fp. 79 bis 84°.

Nupercain (Percain, Cinchocain, Cincain, Dibucain, Cinchocainum hydrochloricum); 2-Butoxy-4-β-diäthylaminoäthylcarbamylchinolin-hydrochlorid.
Percain-hydrochlorid: Fp. 99° [2]. Percain-base: Fp. 65 bis 65,5°.

Verwendet wurde ein Präparat der Ciba A. G., Basel.
Anthrachinonsulfonat: Zuerst Tropfen und amorph, später kristallisieren kleine Drusen und Körner aus. Fp. 147 bis 151°.
Diliturat: Keine Reaktion.
Flavianat: Fp. I 149 bis 153°, II 108 bis 114°, III 90 bis 94°. Bei der Fällung entstehen Aggregate aus langen, faserigen Nadeln. Diese schmelzen bei 90 bis 94° weitgehend durch, in der Schmelze bleiben balkenförmige Kristalle, die sich entweder umwandeln oder bis 114° schmelzen. Neben den umgewandelten Kristallen entstehen trapezförmige Kristallkeime, die zu Drusen heranwachsen und die gesamte Schmelze zur Kristallisation bringen. Der Schmelzpunkt liegt nun bei 149 bis 153°.
Pikrat: Tropfen[1].
Styphnat: Tropfen[1].

Oxyprocain (Oxycain, Hydroxyprocain); 4-Amino-2-hydroxybenzoesäure-β-diäthylaminoäthylester-hydrochlorid.
Oxyprocain-hydrochlorid: Fp. 158 bis 159°, II 152 bis 155°[15].
Zur Untersuchung standen die Präparate der Firmen Dr. Wander und Pharma-Rheinpreußen zur Verfügung; beide Präparate zeigten das gleiche Verhalten.
Anthrachinonsulfonat: Drusen, Nadeln und Nadelbüschel. Fp. 211 bis 215°.
Diliturat: Nadeln. Fp. 210 bis 221°.
Flavianat: Reiben ergibt in der klaren Lösung dunkle Kristallaggregate oder kurze Nadeln und Plättchen. Fp. 204 bis 207°.
Pikrat: Dichter flockiger Niederschlag wird zu feinen Nadeln. Fp. 192 bis 196°.
Styphnat: Es fallen sofort gelbliche, verschieden breite Nadeln aus. Fp. 215 bis 220°, Zersetzung.

Panthesin; 4-Aminobenzoesäure-N-diäthyl-leucinylester-methansulfonat.
Panthesinmethansulfonat: Fp. 157 bis 159° und 170 bis 171°. Dimorph[16].
Panthesin-base: Fp. I 38 bis 40°, II 31 bis 33°. Dimorph[11].
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Sandoz A. G., Basel.
Anthrachinonsulfonat: Tröpfchen.
Diliturat: Keine Reaktion.
Flavianat: Fp. 180 bis 197°. Erst im Verlaufe von 24 Stunden Kristallisation, gelegentlich bleibt die Kristallbildung aus.
Pikrat: Tropfen[1].
Styphnat: Tropfen[1].
Trinitrobenzoat: Fp. 138°[1].

Pantocain (Tetracaine, Amethocaine, Anethaine, Buthetanol, Decicaine, Pontocaine, Tetracainum hydrochloricum); 4-n-Butylaminobenzoesäure-β-dimethylaminoäthylester.
Pantocainhydrochlorid: Fp. 147°[1]. trimorph[13,17]. Pantocainnitrat: Fp. 132°[2], dimorph. Pantocain-base: Fp. 40 bis 41°, II 37°[15].
Verwendet wurde ein Präparat der Farbwerke Hoechst.
Anthrachinonsulfonat: Orangefarbener, flockiger Niederschlag. Fp. 127 bis 135°. Beim Erhitzen sintern die Kristalle, ab 70° Tropfen, die restlichen Kristalle schmelzen bei 127 bis 135°.
Diliturat: In 1 bis 2 Stunden kristallisieren lange, derbe Nadeln. Fp. 174 bis 178°.
Flavianat: Rotbraune bis orangegelbe Nadeln und Sterne. Fp. 180 bis 184°.
Pikrat: Tropfen, kristallisiert schwer, schlecht auswaschbar. Fp. 103 bis 117°[1].

Styphnat: Nach Erwärmen und Reiben fiederförmige Kristalle, Plättchen und kurze Prismen[1]. Fp. 143 bis 147°.

Psicain neu; d-Benzoyl-pseudotropin-carbonsäurepropylesterhydrochlorid. Psicain neu-hydrochlorid: Fp. 210 bis 220° [2]. Psicain neu-base: Fp. 22 bis 2,5°.
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Merck, Darmstadt.
Anthrachinonsulfonat: Reiben ergibt schöne Nadelbüschel. Fp. 130 bis 140°.
Dilituratː Aus klarer Lösung nach einigen Stunden Aggregate von breiten rechteckigen oder zugespitzten Kristallen. Fp. 135 bis 142°.
Flavianat: Flocken, die beim Auswaschen teilweise löslich sind. Fp. 96 bis 105°.
Pikrat: Tropfen und amorph[1].
Styphnat: Tropfen und amorph[1].

Quotane; 1-(β-Dimethylaminoäthyloxy)-3-n-butylisochinolinhydrochlorid. Quotane-hydrochlorid: Fp. 146°.
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Smith, Kline & French Labs., Philadelphia.
Anthrachinonsulfonat: Amorph-flockige Fällung, in der sich Nadeln bilden. Fp. 115 bis 120°.
Dilituratː Sofort Trübung, später Körner. Fp. 197 bis 203°.
Flavianat: Flockiger Niederschlag. Fp. 142 bis 148°.
Pikrat: Dichter amorpher Niederschlag, aus dem Nadeln und Plättchen kristallisieren. Fp. 120 bis 123,5°.
Styphnat: Gelbe Balken, Nadeln und quadratische Plättchen. Fp. 124 bis 127°.

Salicain (Rhenocain, Hydroxytetracain); 4-n-Butylamino-2-hydroxy-benzoesäuredimethylaminoäthylester-hydrochlorid.
Salicain-hydrochlorid: Fp. 155,5°. Salicain-base: Fp. 34 bis 38°.
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Pharma-Rheinpreußen.
Anthrachinonsulfonat: Zarte Nadeln, die zwischen 80 und 90° schmelzen, wobei aber doppelbrechende Kristallreste in der Schmelze zurückbleiben, die erst bei 124 bis 129° schmelzen. In seltenen Fällen treten bräunlich gefärbte Kristalle mit einem Schmelzpunkt bei 163 bis 164° auf.
Dilituratː Rauten und zugespitzte Prismen. Fp. 198 bis 203°. In der Schmelze bleiben Einzelkristalle, die bis 208° unter Zersetzung schmelzen.
Flavianat: Viskose Lösung, die sich in der Hitze stark trübt. Im Verlauf von einem Tag kristallisieren Sphärolithe aus. Fp. 176 bis 181°.
Pikrat: Tropfen, dann Nadeln. Fp. 149 bis 151°.
Styphnat: Monostyphnat: Fp. I 144 bis 147°, II 97 bis 102°.
Distyphnat: Fp. I 128 bis 134°, II 70 bis 75°.
Bei den Fällungsreaktionen entstehen zwei Kristallarten, die sich durch Habitus und Schmelzpunkt unterscheiden. Es treten Prismen oder Körner auf, manchmal kurze Stengel oder Rechtecke, die dunkelgelb gefärbt sind und den höchsten Schmelzpunkt besitzen. Daneben liegen dünne, kleine Nadeln, die bereits bei 97 bis 102° schmelzen. Die höher schmelzende Form vermag in der Schmelze zu wachsen. Fällungen mit Salicainüberschuß ergaben zarte, fädige Kristalle, die bei 70 bis 75° schmelzen. In dieser Schmelze bleiben einige doppelbrechende Körner zurück, die beim Steigern der Temperatur schließlich einen Teil der Schmelztropfen zum Erstarren bringen. Der Schmelzpunkt liegt bei 128 bis 134°. Daneben treten Körner mit dem höchsten Schmelzpunkt auf. Die weiteren Untersuchungen wurden am

Kontaktpräparat durchgeführt. Dabei wurden die instabilen Formen selten beobachtet, gut sind aber die zwei Molekülverbindungen verschiedener Zusammensetzung festzustellen[11].

4-Butylamino-2-hydroxybenzoesäurediäthylaminoäthylester-hydrochlorid (S 650).
S 650-hydrochlorid: Fp. 137 bis 138°.
Verwendet wurde eine Probe der Firma Homburg A. G., Frankfurt, mit der Bezeichnung S 650.
Anthrachinonsulfonat: Zunächst orangegelber, flockiger Niederschlag, später rote Nadeln und Drusen. Fp. 125 bis 128°.
Diliturat: Rhomben. Fp. 198 bis 206°.
Flavianat: Viskose Lösung, die sich beim Erwärmen trübt, nach der Kristallisation schiefwinkelige Kristalle, Nadelbüschel und Körner. Fp. 183 bis 190°.
Pikrat: Sofort feine Nadeln. Fp. 144 bis 146°.
Styphnat: Gelbe Sphärolithe oder Rechtecke. Fp. 123 bis 125°.

4-Butylamino-2-äthoxybenzoesäure-diäthylaminoäthylester-hydrochlorid (S 886).
S 886-hydrochlorid: Fp. 108,5°.
Anthrachinonsulfonat: Rötliche Körner und Drusen. Fp. 124 bis 128°.
Diliturat: Langsame Kristallisation, es entstehen lange, spitze Nadeln und helle, lange Prismen. Fp. 111 bis 114°.
Flavianat: Viskose Lösung, kristallisiert langsam in Form von Drusen. Fp. 163 bis 168°. Manchmal schmelzen Teile der nadeligen Kristallisate bei 87 bis 93°. Der Schmelztropfen wird bei weiterem Erhitzen wieder doppelbrechend, der Schmelzpunkt liegt dann bei 163 bis 168°.
Pikrat: Fp. I 121 bis 124°, II 110 bis 112°. Teilweise treten in den Fällungen neben Körnern und Prismen auch Nadeln auf, die schon bei 110 bis 112° schmelzen.
Styphnat: Zuerst Tropfen, dann zarte Nadeln, Körner und gelegentlich Drusen. Fp. 120,5 bis 123,5°.

Stovain (Amylocain); 1-Dimethylamino-2-methyl-2-butanolbenzoat.
Stovain-hydrochlorid: Fp. 175 bis 176° [1].
Anthrachinonsulfonat: Derbe Drusen. Fp. 135 bis 140°.
Diliturat: Keine Reaktion.
Flavianat: Tropfen und amorph.
Pikrat: Lange Nadeln und Stengel. Fp. 112 bis 115,5°.
Styphnat: Fp. I 141 bis 142°, II 127 bis 129°. Die stabile Form besteht aus Stengeln, quadratischen und rechteckigen, hell lichtgelben Plättchen. Die instabile Form stellt kleine, dunkle Drusen und Körner dar; träge Umwandlung[1].

Surfacaine (Cyclometycaine); 4-Cyclohexyloxybenzoesäure-(2-methyl-piperidino)-propylester-sulfat.
Surfacaine-sulfat: Fp. 164° [1].
Verwendet wurde ein Präparat der Firma Eli Lilly & Co., Indianapolis.
Anthrachinonsulfonat: Erst nach einem Tag bilden sich in der dichten amorphen Fällung kleine Drusen. Fp. 87 bis 92°.
Diliturat: Kristallisiert erst im Verlauf von 1 bis 2 Tagen, teilweise bleibt die Fällung aus. Fp. 182 bis 187°.
Flavianat: Beim Erwärmen getrübte Lösung, erst in 1 oder 2 Tagen treten dunkle, schwach doppelbrechende Aggregate auf. Fp. 156 bis 163°.
Pikrat: Tropfen.
Styphnat: Tropfen.

Tabelle 2

Fp. °C	Substanz	Eutekt. Temp. mit		Glaspulver	Temp. °C Rotfilter	Besondere Kennzeichen
		Azobenzol	Benzil			
22—25	Psicain-base	flüssig	flüssig	1,5101 1,5000	43 73	
23—25	Tronothane-base	flüssig	flüssig	1,5000 1,4936	54—55 68—69	Dimorph: II 7 bis 8° [11]
32— 33,5	Butyn-base	flüssig	23—24	1,5204 1,5101	48 72	
34—38	Salicain-base	flüssig	flüssig	1,5502 1,5403	43 67	
38—40	Panthesin-base	22	25—26	1,5204 1,5101	44—45 68—70	Dimorph: II 31 bis 33° [11]
40—41	Pantocain-base	30	31	1,5403 1,5299	49 69—70	Dimorph: II 37° [15]
41,5	Hostacain-base	27	32	1,5204 1,5101	53 80—81	Gleichgewicht: träge, erstarrt glasig
54	p-Aminobenzoesäure-β,β-dimethyl-γ-diäthylaminopropyl-ester	39	43	1,5204 1,5101	69—70 93—95	Gleichgewicht: sehr träg, Körner, Prismen [2]
55—59 (55—75)	Cocain-nitrat	39	46	1,5204	76—77	Schmilzt träg. Gleichgewicht: Rechtecke. In einzelnen Tropfen fallen sekundär kurze Nadeln aus. Manchmal schon Zersetzung beim Erwärmen und Fp. 55 bis 75° [2]

58	Butesin	41	44	1,5403 1,5299	73 92—93	Gleichgewicht: rechteckige Platten, erstarrt zu Sphärolithen
61,5	Novocain-base	43	47	1,5403 1,5299	67—68 87	Gleichgewicht: sinkt ab. Erstarrt glasig
65	Cycloform	44	45	1,5403 1,5299	65—66 88—89	Ab 50° Körnchen, Nadeln und Plättchen. Gleichgewicht: Körner und Plättchen. Schmelze erstarrt zu Sphärolithenmosaik[2]
65–65,5	Nupercain-base	42	52	1,5299 1,5204	70 97	Gleichgewicht: Körner, Nadeln. Erstarrt in Sphärolithen
68,5	Xylocain	32	40	1,5000 1,4936	70—71 84—85	Ab 60° Tröpfchen
69—71	Eucain-base	41	52	1,4936 1,4840	75 97—98	Gleichgewicht: Körner
74	Propäsin	50	54	1,5000 1,5404	93—94 71—74	Ab 70° Tröpfchen. Gleichgewicht: Prismen. Erstarrt sphärolithisch[2]
78	Cornecain-base	55	63	1,5403 1,5299	72—73 93—94	Gleichgewicht: träg, Nadeln, Körner
90,5	Anästhesin	56	63	1,5502 1,5403	99 119	Ab 75° kleine rechteckige Plättchen. Gleichgewicht: Prismen[2]
98	Cocain	47	62	1,5000 1,4936	103—105 121—123	Ab 70° Körner, Nadeln. Gleichgewicht: träg, Körner. Erstarrt glasig, beim Erwärmen sphärolithisch[2]
99	Percain-hydrochlorid	63	74	1,5502 1,5403	101—102 131—132	Gleichgewicht: träg, Nadeln, Platten[2]
101,5	Butyn-sulfat	Benzil 83,5	Acetanilid 54 tr.	1,5299 1,5204	102 127—129	Gleichgewicht: träg, Körner

(Fortsetzung der Tabelle 2)

Fp. °C	Substanz	Eutekt. Temp. mit Benzil	Eutekt. Temp. mit Acetanilid	Glaspulver	Temp. °C Rotfilter	Besondere Kennzeichen
103	Novocain-nitrat	93	73	1,5502	113- 115	Gleichgewicht: Körner, erstarrt glasig[2]
108,5	4-Butylamino-2-äthoxybenzoesäure-diäthylaminoäthylester-hydrochlorid (S 886)	81	55	1,5403 1,5299	114—116 143	Ab 105° Tropfen. Gleichgewicht: träg, Balken, Nadeln
115—116	Holocaine-base	72	80—81	1,5502 1,5611	139—140 120—121	Gleichgewicht: Nadeln
		Acetanilid	Phenacetin			
132	Pantocain-nitrat	85	104	1,5299	143	Gleichgewicht: träg, Körner. Dimorph[2]
135,5—136	Cornecain-hydrochlorid	78	103	1,5611 1,5502	111—113 144	Gleichgewicht: träg
137—138	4-Butylamino-2-oxybenzoesäure-diäthylaminoäthylesterhydrochlorid (S 650)	78	101	1,5502 1,5403	135—137 166	Ab 125° Tropfen. Gleichgewicht: träg, Körner. Bei Glaspulver 1,5403 beginnende Zersetzung
		Phenacetin	Benzanilid			
146	Quotane-hydrochlorid	91	101	1,5299 1,5299 bis 1,5403	154	Ab 110° Körner, rechteckige Plättchen. Gleichgewicht: Nadeln, Balken, sinkt ab. Dimorph
147 (139)	Pantocain-hydrochlorid	105	115 tr.	1,5502 1,5403	133—135 161—163	Gleichgewicht: Plättchen. Enantiotrop polymorph, II 139°, III 130°[17]. Manche Präparate enthalten II, dann Schmelzbeginn 139°. Erstarrt glasig[2]

149	Psicain-bitartrat	121	134	1,5101 1,5000	142 172—174	Ab 100° Körner, Plättchen. Erstarrt glasig. In Paraffin homogenes Schmelzen bei 120 bis 125°[2]
155,5	Salicain	102	117	1,5611 1,5502	126 157—158	Ab 130° Nadeln, Platten. Gleichgewicht: Nadeln
156	Novocain-hydrochlorid	114	129	1,5611 1,5502	159—161 192—195	Ab 135° Tröpfchen. Gleichgewicht: Prismen und große Kristallblöcke. Erstarrt glasig[2]
158—159	Novesin	99	108	1,5299 1,5204	142 173—175	Gleichgewicht: Platten. Bei Glas 1,5204 beginnende Zersetzung
158—159 (152—155)	Oxyprocain (Oxycain)	113	128	1,5700	152—154	Dimorph[15]. Schmelzbeginn bei 150 bis 153°. Aus der Schmelze kristallisiert Mod. I
163,5	Alypin-nitrat	103	115	1,4936 bis 1,4842		Ab 140° Nadeln. Gleichgewicht: Körner, Platten. Schmelze bald braun[2]
164	Surfacaine	115	133	1,5000 1,4936	167 193—196	Gleichgewicht: Klein kristallin. Erstarrt glasig[2]
157—164	Falicain	97	106	1,5101	172—173	Erstarrt in Platten. Dimorph: II 161°[15]
169	Tronothane-hydrochlorid	93—94 Benzanilid	108 Salophen	1,4842	188—189	Ab 130° Körner. Gleichgewicht: Platten
172	Panthesin-methansulfonat	123	130	1,5204 1,5101	130 163—164	Dimorph[16]. Schmelzbeginn bei 160°. Gleichgewicht: Körner
172,5	Chlorprocain	138—139	152	1,5611 1,5502	173—175 205	Ab 155° Tropfen. Gleichgewicht: träg, Nadeln
173	Metycain-hydrochlorid	116	130	1,5000	184—186	Ab 115° Nadeln. Gleichgewicht: Nadeln, sinkt ab. Erstarrt glasig, beim Erwärmen kristallin[2]

(Fortsetzung der Tabelle 2)

Fp. °C	Substanz	Eutekt. Temp. mit		Glaspulver	Temp. °C Rotfilter	Besondere Kennzeichen
		Salophen	Dicyandiamid			
189—191	Cocain-hydrochlorid	155	138	1,5101 bis 1,5204		Ab 170° Nadeln, Rechtecke, Prismen. Beim Schmelzen Gasblasen. Mit Salophen $n = 1{,}5611$ bei 117 bis 118°, 1,5502 bei 146 bis 147° [2]
185—193	Holocaine	127	113	1,5502 1,5403	178 208—209	Ab 150° Nadeln. Bei Glas 1,5403 beginnende Zersetzung
197—199	Larocain-hydrochlorid	156	125	1,5403 1,5299	182—183 212— 213	Ab 160° Nadeln, Keile, Dreiecke, Spindeln. Gleichgewicht: träg, polare Prismen, Platten[2]
210—220	Psicain neu-hydrochlorid	154	135	1,4842 bis 1,4936		Ab 130° Nadeln, Stengel. Schmelze gelb. Erstarrt teils glasig, teils kristallin. Mit Salophen $n = 1{,}5403$ bei 135 bis 137°, 1,5301 bei 162 bis 164° [2]
230—234	Hostacain-hydrochlorid	168	155	1,4937 bis 1,5000		Ab 160° Nadeln, Balken. Gleichgewicht: sinkt rasch ab
275—278	Eucain-β-hydrochlorid	177	169			Ab 170° Nadeln. Starke Sublimation. Schmilzt unter mäßiger Gasblasenbildung. Erstarrt glasig. Brechungsindex zwischen 1,4683 und 1,4842; durch Flüchtigkeit erschwert. Aus Alkohol Rauten, symmetrische Auslöschung. γ längs. Sublimiert bei 240° in flachen Stengeln, α' wenig $> 1{,}50$, γ' wenig $< 1{,}62$[2]

Tronothane (Pramoxin); 4-Butoxyphenyl-γ-morpholinopropyläther-hydrochlorid.
Tronothane-hydrochlorid: Fp. 169°. Tronothane-base: Fp. I 23 bis 25°, II 7 bis 8°. Dimorph[11].
Anthrachinonsulfonat: Die Lösung trübt sich beim Erwärmen. Lange, breite Nadeln und feine Nadelbüschel. Fp. 129 bis 134°.
Dilituratː Fp. 178 bis 180°. Schon unter 100° schmelzen einzelne Kristalle, doch wachsen in der Schmelze Nadeln, die bei 178 bis 180° erst schmelzen.
Flavianat: Zuerst Tropfen, dann breite Nadeln, Sterne und schiefwinklige Kreuze. Fp. 135 bis 145°.
Pikrat: Tropfen und amorph.
Styphnat: Dendritenartig verzweigte Kristalle. Fp. 134 bis 136°.

Xylocain (Lidocain, Lignocaine, Xylestesin, Xylatox, Lidacaton, Lidocainum hydrochloricum); Dimethylaminoessigsäure-2,6-dimethylanilid.
Xylocain: Fp. 68,5°.
Verwendet wurde ein Präparat des Astra-Werkes, Södertälje.
Anthrachinonsulfonat: Tropfen.
Dilituratː Keine Reaktion.
Flavianat: Keine Reaktion.
Pikrat: Gut ausgebildete, verschieden gestaltete Kristalle. Fp. 217 bis 227°. Sublimiert ab 190° in Form von Plättchen.
Styphnat: Nadeln, Spieße und Drusen. Fp. 199 bis 204°. Sublimiert ab 175° in Form von Nadeln.

Es schien uns auch zweckmäßig, die reinen L. A. selbst nach Schmelzpunkten geordnet und mit den für die Tabellen von *Kofler*[2] üblichen physikalischen Konstanten anzuführen, für den Fall, daß eine Reinsubstanz identifiziert werden soll. In Tabelle 2 wurden neben den von uns neu bearbeiteten Stoffen der Vollständigkeit halber auch L. A. aufgenommen, die bereits in der Tabelle von *Kofler*[2] enthalten sind. Die Angaben wurden von dort übernommen.

Nachstehend angeführten Firmen sind wir für die Überlassung von Substanzen zu Dank verpflichtet.

Abbott Labs., North Chicago, Ill.
Astra-Werke, Södertälje.
Ciba A. G., Basel.
Eli Lilly & Co., Indianapolis.
VEB Fahlberg List., Magdeburg.
Homburg A. G., Frankfurt (Main).
VEB Leuna-Werk „Walter Ulbricht".
Rheinpreußen A. G., Meerbeck (Moers).
Sandoz A. G., Basel.
Schering A. G., Berlin (West).
Smith, Kline & French Labs., Philadelphia.
Dr. A. Wander, Ges. m. b. H., Wien.

Zusammenfassung

Das ständige Anwachsen der Stoffe mit lokalanästhetischer Wirkung ließ es zweckmäßig erscheinen, neuerdings Reaktionen zur Unterscheidung

und Identifizierung der einzelnen Substanzen zusammenzufassen. Dank dem freundlichen Entgegenkommen mehrerer pharmazeutischer Firmen war es möglich, für 28 Lokalanästhetica einen Analysengang auszuarbeiten, der auf der Identifizierung durch Mikro-Schmelzpunktbestimmung von Derivaten basiert. Ausgegangen wird von Anthrachinon-β-sulfonaten. Dazu werden die Schmelzpunkte von Dilituraten, Flavianaten, Pikraten und Styphnaten zur wahlweisen Verwendung angegeben.

Bei einer Reihe von Fällungen wurden zwei bzw. mehrere verschiedene Schmelzpunkte beobachtet, die sich in der Mehrzahl auf Polymorphie zurückführen ließen.

Zur Identifizierung der Reinsubstanzen sind für 49 Basen und Salze die für die Identifizierung nach *Kofler* notwendigen Daten in einer Tabelle zusammengefaßt.

Summary

The steady increase of materials with local anesthetic action made it appear expedient to collect once more the reactions for the differentiation and identification of the individual substances. With the cooperation of several pharmaceutical houses, it was possible to work out a scheme of analysis for 28 local anaesthetics, which is based on the identification of derivatives by determining the micro-melting point. The start was made with anthraquinone-β-sulfonates. In addition, the melting points are given of dilurates, flavianates, picrates, and styphnates for selective use.

In a number of precipitations, two or more divergent melting points were observed; for the most part these could be attributed to polymorphism.

The data necessary for the *Kofler* identification are assembled in a table, which includes the figures for 49 pure bases and salts.

Résumé

Le nombre croissant de substances douées d'action anesthésique locale a fait apparaître l'utilité de résumer les réactions nouvellement employées pour la différenciation et l'identification de ces substances individuelles. Grâce à l'amical accueil de plusieurs firmes pharmaceutiques, il a été possible de mettre au point les modes opératoires d'identification de 28 anesthésiques locaux, basés sur la microdétermination de points de fusion de dérivés. Les anthraquinone β sulfonates ont été d'abord considérés; il est venu s'y ajouter au choix la possibilité de détermination des points de fusion des dilituratés, des flavianates (dinitro-2,4 naphtol-1 sulfonates), des picrates et des styphnates.

Pour toute une série de précipités on a observé deux ou plusieurs points de fusion différents qui dans la plupart des cas ont pu être attribués à des formes polymorphes.

On a résumé dans un tableau les données nécessaires à l'identification d'après *Kofler* de 49 bases et sels à l'état de substances pures.

Literatur

[1] *R. Fischer* und *T. Reichel*, Pharmaz. Zentralhalle **85**, 11 (1944); *R. Fischer*, Arch. Pharmaz. **271**, 466 (1933).

[2] *L. Kofler* und *A. Kofler*, Thermo-Mikro-Methoden. Innsbruck: Wagner. 1954.

[3] *R. Fischer* und *W. Iwanoff*, Arch. Pharmaz. **281**, 361 (1943).
[4] *L. Kofler* und *F. A. Müller*, Mikrochem. **22**, 43 (1937).
[5] *M. Brandstätter*, Mikrochem. **33**, 25 (1947).
[6] *E. Hucknall* und *G. E. Turfitt*, J. Pharm. Pharmacol. **1**, 462 (1949).
[7] *C. Massatch*, Pharmaz. Ztg. **83**, 210 (1947).
[8] *H. Mühlemann* und *A. Bürgin*, Qualitative Arzneimittelanalyse. München: E. Reinhardt. 1951.
[9] Chem. Zbl. **26**, II, 1443 (Patentschrift).
[10] *D. T. Meredith* und *C. O. Lee*, J. Amer. Pharmac. Ass. **28**, 369 (1939).
[11] *H. Grimm*, Dissertation, Innsbruck 1956.
[12] New and Non Official Remedies, American Medical Association, Chicago. 1938.
[13] *A. Wickstrom*, J. Pharm. Pharmacol. **5**, 163 (1953).
[14] *M. Hädicke*, Pharmaz. Zentralhalle **94**, 384 (1955).
[15] *M. Brandstätter* und *H. Grimm*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1175.
[16] Pharmaz. Ztg. **76**, 596 (1931).
[17] *H. Doser*, Arch. Pharmaz. **281**, 251 (1943).

Aus dem Organisch-analytischen Laboratorium der Farbenfabriken Bayer A. G., Leverkusen

Über die jodometrische Mikro- und Ultramikro-C-H-Bestimmung. Die Bestimmung des Verhältnisses C : H ohne Wägung*

Von

Josef Unterzaucher

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 25. Februar 1957)

Über die jodometrische Mikro-C-H-Bestimmung, die bekanntlich auf der direkten Bestimmung des Sauerstoffes der Verbrennungsprodukte Kohlendioxyd und Wasser beruht, ist vom Verfasser in Form einer kurzen Mitteilung bereits an anderer Stelle berichtet worden[1]. In der Zwischenzeit konnte die Methode verbessert, die Abmessungen der Apparatur festgelegt und neue Erfahrungen gesammelt werden. Zweck dieser Abhandlung ist es daher, diese neue Methodik der C-H-Bestimmung ausführlich zu beschreiben und ihre Leistungsfähigkeit im Mikro- und Ultramikromaßstab aufzuzeigen.

1. Grundlage der Methode

Die zu untersuchende Substanz wird im Luftstrom über Kupferoxyd verbrannt. Der mit den Verbrennungsprodukten Kohlendioxyd und Wasser mitgeführte, überschüssige Sauerstoff wird durch erhitztes Kupfer bei zirka 600° C quantitativ aus dem Gasstrom entfernt. Das Wasser wird nun durch Ausfrieren bei etwa —70° C festgehalten, während das Kohlendioxyd nach dem Prinzip der Sauerstoffbestimmung über dem Kohlekontakt in Kohlenoxyd übergeführt, mit Anhydrojodsäure zur Reaktion gebracht und über das entstehende Jod bestimmt wird. Unmittelbar darauf wird das durch Ausfrieren bei —70° C inzwischen fest-

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.
Vortrag, gehalten anläßlich der Tagung der Gesellschaft Schweizerischer Mikroanalytiker in Genf, 5. und 6. Mai 1956.

gehaltene Wasser durch Erhitzen aufgetaut und über dem Kohlekontakt zu Kohlenoxyd umgesetzt, das dann mit Anhydrojodsäure oxydiert und über das Jod durch Titration bestimmt wird.

Sowohl bei der C-Bestimmung wie auch bei der H-Bestimmung wird die anfallende Jodmenge durch Überführung mit Brom in Jodat versechsfacht und mit 0,02-n Thiosulfat titriert.

Im Gesamtablauf spielen sich demnach für 1 Gramm-Atom C bzw. H folgende Reaktionen ab:

$$1\,C \xrightarrow{O_2} CO_2 \xrightarrow{C} 2\,CO \xrightarrow{HJ_3O_8} 0{,}4\,J_2 \xrightarrow{Br} 2{,}4\,J_2 \xrightarrow{\text{äquivalent}}$$

$$240\,000\text{ ml }0{,}02\text{-n }Na_2S_2O_3 \qquad (1)$$

$$1\,H \xrightarrow{O_2} 0{,}5\,H_2O \xrightarrow{C} 0{,}5\,CO \xrightarrow{HJ_3O_8} 0{,}1\,J_2 \xrightarrow{Br} 0{,}6\,J_2 \xrightarrow{\text{äquivalent}}$$

$$60\,000\text{ ml }0{,}02\text{-n }Na_2S_2O_3 \qquad (2)$$

1 ml 0,02-n $Na_2S_2O_3$ zeigt demnach bei der

C-Bestimmung 0,05004 mg Kohlenstoff, bei der
H-Bestimmung 0,01680 mg Wasserstoff an.

Vermöge dieser überaus günstigen Umrechnungsfaktoren und der Vorteile der jodometrischen Titration bietet die vorliegende Methode die Möglichkeit, den Kohlenstoff und Wasserstoff einer organischen Substanz mit einer höheren Genauigkeit als nach den bisherigen Mikromethoden zu bestimmen. Dies trifft insbesondere für die Bestimmung des Wasserstoffes zu, was für die Konstitutionsermittlung organischer Verbindungen und die quantitative Bestimmung sehr kleiner Wasserstoffmengen von erheblicher Bedeutung ist. Nach unseren Erfahrungen mit Analysen reiner Testsubstanzen, von denen einige im letzten Teil dieser Abhandlung unter A aufgeführt sind, betragen die Fehlergrenzen im Mikromaßstab beim Kohlenstoff $\pm$ 0,1% absolut, beim Wasserstoff $\pm$ 0,04% absolut. Letztere weichen jedoch meist nicht mehr als 0,016 bis 0,02% absolut von den berechneten Werten ab. Damit ist für die *Bestimmung des Wasserstoffes eine Genauigkeit erreicht, die an die Genauigkeit der Kohlenstoffbestimmung so nahe herankommt*, daß man aus den bei der Analyse *erhaltenen Titrationswerten für Kohlenstoff und Wasserstoff das Atomverhältnis C : H* einer organischen Substanz mit Zuverlässigkeit bestimmen kann:

Nach den Reaktionsfolgen (1) und (2) ist das Titrationsvolumen für 1 Gramm-Atom Kohlenstoff (240000 ml 0,02-n $Na_2S_2O_3$) genau 4mal so groß als das Titrationsvolumen für 1 Gramm-Atom Wasserstoff (60000 ml 0,02-n $Na_2S_2O_3$). Beträgt daher bei einer Analyse das Titrationsvolumen für Kohlenstoff genau 4mal soviel als das Titrationsvolumen für Wasserstoff, dann ist das Verhältnis C : H = 1 : 1. Dies ist zum Beispiel bei der Analyse von *m*-Nitranilin der Fall. Man braucht demnach nur die bei

der Kohlenstofftitration erhaltenen Milliliter (ml_C) durch 4 zu dividieren; die erhaltene Zahl verhält sich dann zu den bei der Wasserstofftitration erhaltenen Millilitern (ml_H) wie die Anzahl (x) der Atome C zur Anzahl (y) der Atome H:

$$\left(\frac{ml_C}{4} : ml_H\right)_m = (xC : yH)_n, \qquad (3)$$

wobei m und n unbestimmte Zahlen sind.

Dies besagt, daß das *Atomverhältnis C: H* einer organischen Substanz aus den *Titrationsvolumina allein*, d. h. *ohne Waage* und *ohne Kenntnis des Thiosulfattiters* bestimmt werden kann. Dieses Verhältnisresultat ist daher mit keinen Einwaagefehlern und Titerfehlern behaftet.

Zum Beispiel:

Bei der Analyse von *m*-Nitranilin, $C_6H_6N_2O_2$, wurden bei der Kohlenstoffbestimmung 45,74 ml_C, bei der Wasserstoffbestimmung 11,46 ml_H erhalten:

$$C:H = \frac{45{,}74}{4} : 11{,}46 = 1 : 1{,}002.$$

Bei der Analyse von Harnstoff, CH_4N_2O, ergaben sich

$$ml_C = 22{,}42, \quad ml_H = 22{,}40:$$

$$C:H = \frac{22{,}42}{4} : 22{,}40 = 1 : 3{,}996.$$

Erhält man bei einer Analyse also für Kohlenstoff und für Wasserstoff annähernd dieselben Titrationsvolumina, dann weiß man sofort, daß das Verhältnis C : H = 1 : 4 ist.

Diese zwei Analysenbeispiele wurden mit Substanzmengen im Mikromaßstab durchgeführt. Bei der Analyse von Benzoesäure, $C_7H_6O_2$, mit einer Substanzmenge von rund 0,34 mg wurden für Kohlenstoff 9,30 ml, für Wasserstoff 2,00 ml 0,01-n $Na_2S_2O_3$ verbraucht:

$$\begin{aligned} C:H = \frac{9{,}30}{4} : 2{,}00 &= 1 : 0{,}86 \\ &= 2 : 1{,}72 \\ &= 3 : 2{,}58 \\ &= 4 : 3{,}44 \\ &= 5 : 4{,}30 \\ &= 6 : 5{,}16 \\ &= 7 : 6{,}02\ C_7H_6 \\ &= 8 : 6{,}88 \\ &= 9 : 7{,}74 \end{aligned}$$

Wie man sieht, liegt das Verhältnis C : H dort, wo die Ganzzahligkeit am besten erreicht ist.

Wie das Beispiel mit Benzoesäure und die im letzten Teil dieser Abhandlung unter B angeführten Analysen zeigen, gelingt die Bestimmung

des Atomverhältnisses C : H ohne Schwierigkeiten auch noch mit Substanzmengen von einigen Zehntelmilligramm, während die Prozentwerte infolge der unzureichenden Wägegenauigkeit der gewöhnlichen Mikrowaage gänzlich unbrauchbar sind.

2. Die Apparatur und ihre Funktion

Die gesamte Apparatur ist in Abb. 1 dargestellt. Sie besteht aus den *Reinigungsanlagen* für Luft und Stickstoff, aus der *Verbrennungsapparatur*

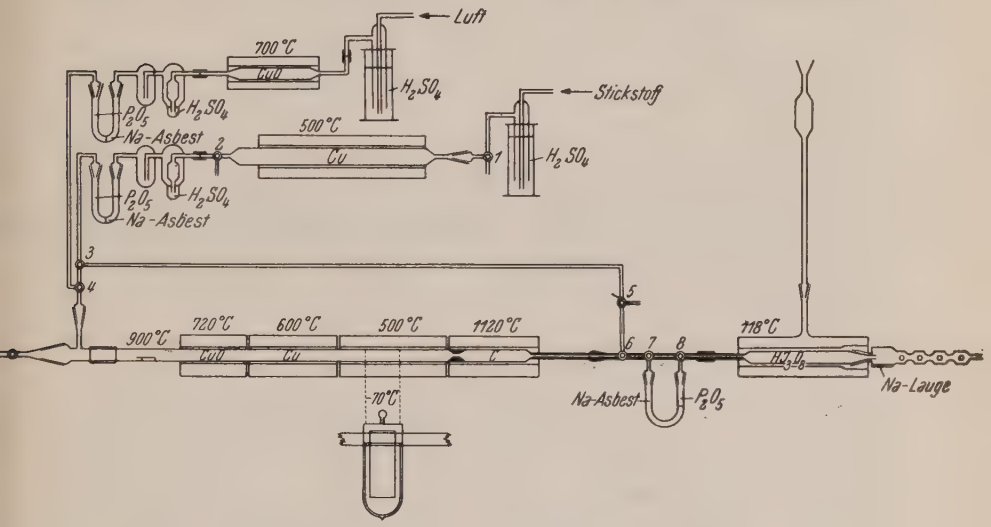


Abb. 1. Apparatur zur jodometrischen Mikro- und Ultramikro-C-H-Bestimmung

und der *Sauerstoffapparatur*. Dazwischen befindet sich eine *Kühlvorrichtung* zum Ausfrieren des Wassers und ein Ofen zu dessen Austreibung.

Die *Verbrennungsluft* passiert zunächst einen Druckregler nach *Pregl* mit konz. Schwefelsäure als Sperrflüssigkeit, durchströmt dann ein mit drahtförmigem Kupferoxyd beschicktes, auf 700° C erhitztes Rohr aus Quarz oder Hartglas (Länge 400 mm, Durchmesser 20 mm), den Blasenzähler mit Auffanggefäß und das mit Natronasbest und Phosphorpentoxyd auf Bimstein gefüllte U-Rohr, um beim Dreiweghahn 4 in völlig reinem Zustande in das Reaktionsrohr zu gelangen. Die Strömungsgeschwindigkeit der Luft beträgt 4 ml pro Minute.

Der als Transportgas nach der Substanzverbrennung dienende *Stickstoff* durchströmt eine Reinigungsanlage, die der Luftreinigungsanlage ähnlich ist und seinerzeit bei der Mikrosauerstoffbestimmung genau beschrieben wurde[2]. Der Unterschied gegenüber der Luftreinigungsanlage besteht darin, daß der Stickstoff hier über auf 500° C erhitztes, aus draht-

förmigem Kupferoxyd durch Reduktion mit Wasserstoff hergestelltes Kupfer geleitet wird. Das Rohr zur Aufnahme des Kupfers besteht aus durchsichtigem Quarz und gestattet die Regeneration des Kupfers durch Reduktion des gebildeten Kupferoxyds mit Wasserstoff mittels der Dreiweghähne *1* und *2* an Ort und Stelle und unter Ausschaltung des Luftzutrittes (Länge 500 mm, Durchmesser 37 mm). Die Strömungsgeschwindigkeit des Stickstoffes beträgt 10 ml pro Minute. Mittels des Dreweghahnes *3* kann der Stickstoff entweder direkt über den Dreiweghahn *4* oder über die Umkehrspülung beim Dreiweghahn *6* in das Reaktionsrohr

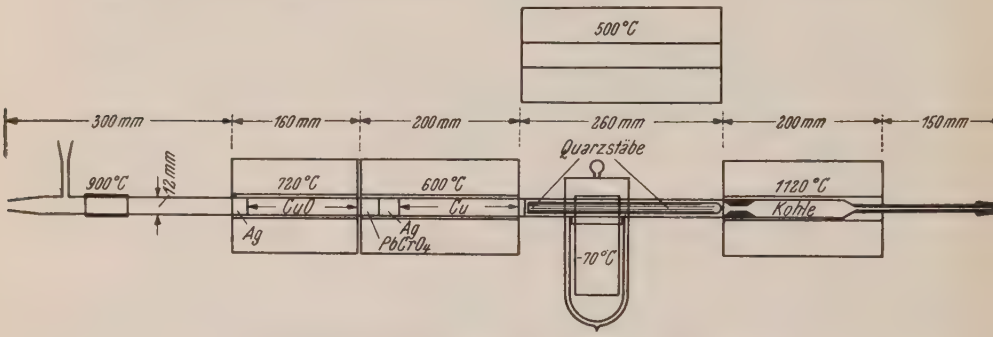


Abb. 2. Reaktionsrohr, Abmessungen, Beschickung und Beheizung

geleitet werden. Der Dreiweghahn *5* dient zum Einleiten des Wasserstoffes zum Zwecke der Reduktion der durch längeren Gebrauch allmählich oxydierten Kupferschicht.

Das Reaktionsrohr, dessen Abmessungen, Beschickung und Beheizung aus der Abb. 2 zu ersehen sind, besteht aus durchsichtigem Quarz und besitzt einen mit Normalschliff Nr. 0 ausgestatteten seitlichen Rohransatz. Am linken Ende, wo das Substanzschiffchen eingeführt wird, sitzt mittels Normalschliffes Nr. 2 eine aus Glas gefertigte Verschlußkappe mit Kapillarhahn, während das rechte Ende mit einem Normalschliff Nr. 0 versehen ist. Vor dem für die Aufnahme der Kohle bestimmten Teil hat das Reaktionsrohr eine Verjüngung von 40 mm Länge und 4 mm lichter Weite, die den Zweck hat, die geperlte Kohle durch Quarzsplitter und Quarzwolle besser in Position zu halten, als dies beim Innendurchmesser des Rohres von 10 mm möglich ist. Zwecks Verminderung des toten Raumes ist der aus dem Kohlekontaktofen herausragende Rohrteil zu einer dickwandigen Kapillare ausgezogen, deren lichte Weite 2 mm beträgt.

Der durch einen Synchronmotor automatisch vorwärts bewegte bewegliche Brenner, mit Gas oder elektrisch beheizt, dient zur Substanzvergasung und durchläuft die 130 mm lange Strecke vom Ausgangspunkt bis zum Langofen in 20 Minuten.

In dem auf 720° C gehaltenen Rohrteil besteht die Füllung aus einem 20 mm langen Silberwollepfropfen und einer Schicht drahtförmigen Kupferoxyds von 140 mm Länge.

Anschließend befindet sich eine 25 mm lange Schicht von geschmolzenem Bleichromat, gekörnt, die gegen das Kupferoxyd und die folgende, 25 mm lange Silberwolleschicht mit einem Quarzwollepfropfen von 1 bis 2 mm Dicke abgegrenzt ist. Bleichromat, Silber und die daran anschließende Lage frisch reduzierten, drahtförmigen Kupfers von 160 mm Länge werden auf 600° C gehalten. Die Kupferschicht ragt 10 mm aus dem Ofen hervor.

Eine solche Kupferschicht reicht für die Sauerstoffaufnahme von rund 60 Analysen und besteht dann fast zur Gänze aus Kupferoxyd. Um die Schicht wieder gebrauchsfertig zu machen, reduziert man mit Wasserstoff in der folgenden Weise:

Nach Ausschaltung sämtlicher zur Beheizung des Reaktionsrohres dienenden Öfen läßt man das Reaktionsrohr auf Zimmertemperatur abkühlen und entfernt den die Kupferschicht umgebenden Ofen durch Verschieben zum Kohlekontaktofen. Dann leitet man bei Hahn *5* über Hahn *6* (Abb. 1) einen mäßigen Wasserstoffstrom in das Reaktionsrohr und läßt ihn durch dessen offenes Schliffende austreten. Sobald alle Luft aus dem Reaktionsrohr entfernt ist, erhitzt man die Kupferschicht, an deren rechtem Ende beginnend, vorsichtig mit einer Gasflamme, so daß die Reduktion langsam verlaufen kann. Nach Beendigung der Regeneration des Kupfers schaltet man den Wasserstoffstrom ab und leitet den Reinstickstoffstrom über die Umkehrspülvorrichtung bei Hahn *6* in das Reaktionsrohr, so daß aller Wasserstoff daraus verdrängt wird. Nun schiebt man den Ofen für die Erhitzung des Kupfers wieder an seinen ursprünglichen Platz und schaltet sämtliche Öfen des Reaktionsrohres an. Das bei der Reduktion gebildete Wasser wandert dann mit dem Stickstoffstrom in den leeren Rohrteil und wird mit einer Gasflamme durch das Schliffende des Reaktionsrohres entfernt. Das frisch reduzierte Kupfer enthält geringe, bei der Analyse jedoch störende Wasser- und Wasserstoffmengen. Um diese zu entfernen, erhitzt man das frisch reduzierte Kupfer 2 bis 3 Stunden auf 700° C. Hernach wird der Ofen wieder auf die Arbeitstemperatur von 600° C eingestellt.

In dem bis zum Ende der Kupferschicht reichenden Teil des Reaktionsrohres findet die Substanzverbrennung, die Absorption von Halogen und Schwefel, die Reduktion der Stickoxyde und die Absorption des überschüssigen Sauerstoffes statt. Demgemäß sind am Ende der Kupferschicht nur Kohlendioxyd und Wasser neben Stickstoff als Trägergas vorhanden.

In dem nun folgenden Rohrteil, der zwischen dem Kupfer- und Kohlekontaktofen liegt, findet die quantitative Trennung des Wassers vom Kohlendioxyd, die wir früher mit entwässertem Bariumchlorid durchgeführt haben, durch Ausfrieren bei etwa —70° statt, wozu wir eine

zweckmäßige Kühlvorrichtung entwickelt haben. Die Bariumchlorid-Technik wurde verlassen, weil sie sich bei höheren Wasserstoffgehalten nicht befriedigend bewährt hatte.

Dieser Rohrteil enthält zur Vermeidung unnützen toten Raumes vier hintereinander liegende Quarzstäbe, die zwecks Verminderung der Wärmeübertragung an den berührenden Enden mit kleinen Nocken versehen sind. Der zweite Quarzstab ist 60 mm lang und liegt zwischen den zwei Öfen in der thermischen Mitte, wo die Kühlvorrichtung aufgesetzt wird.

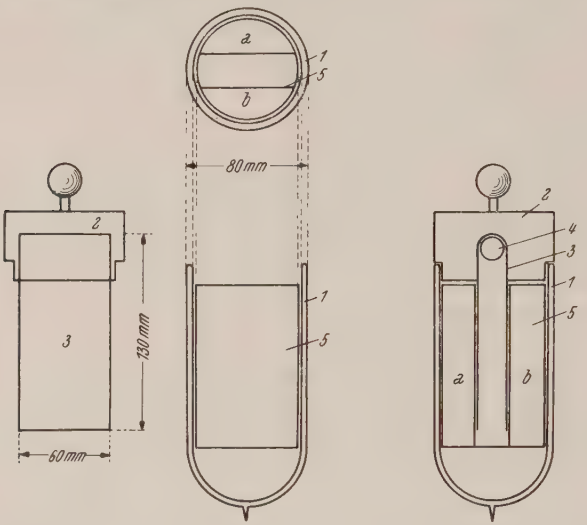


Abb. 3. Kühlvorrichtung zum Ausfrieren des Wassers
1 Dewargefäß, *2* Verschlußstück, *3* Kupferbügel, *4* Reaktionsrohr, *5* Drahtnetz-Einsatz

Unsere Kühlvorrichtung (Abb. 3) beruht auf der Wärmeableitung durch einen Kupferbügel, der in ein Kältebad eintaucht. Die gekühlte Strecke beträgt 6 cm.

Demgemäß besteht die Kühlvorrichtung aus einem Dewar-Gefäß *1* mit einem passenden Verschlußstück *2*, in dem ein Kupferblechbügel *3* befestigt ist. Die ganze Anordnung ist so getroffen, daß bei aufgesetztem Verschlußstück der Kupferbügel tief in das Dewar-Gefäß hineinreicht, während dessen gebogener Teil das Reaktionsrohr *4* dicht umschließt, das auf dem Dewar-Gefäß aufliegt. Im Dewar-Gefäß befindet sich ein Drahtnetzeinsatz *5*, dessen seitliche Behälter *a* und *b* zur Aufnahme der Trockeneisstücke dienen, damit der Kupferbügel mühelos und ohne Bruchgefahr für das Gefäß in das Trockeneis-Aceton-Kältebad gebracht werden kann. Dessen Temperatur beträgt ungefähr -82° C. Die beschriebene Kühlvorrichtung ermöglicht es, den für die Ausfrierung des Wassers bestimmten Teil des Reaktionsrohres in 5 Minuten von Zimmertemperatur auf etwa —70° C abzukühlen

und gegebenenfalls 4 Stunden auf dieser Temperatur zu halten. Die Handhabung ist sehr einfach. Von der gebrauchsfertigen Kühlvorrichtung nimmt man das Verschlußstück mit dem Kupferbügel ab, stellt das Dewar-Gefäß unter das Reaktionsrohr und setzt das Verschlußstück wieder auf, wobei der Kupferbügel direkt auf das Rohr zu liegen kommt. Ebenso schnell und mühelos ist die Kühlvorrichtung auch wieder entfernt, was für unsere Zwecke nicht ohne Belang ist.

Zur Verflüchtigung des ausgefrorenen Wassers nach der Bestimmung des Kohlenstoffes dient ein aufklappbarer, nach hinten verschiebbarer Ofen, der das Rohrstück vom Kupfer- bis zum Kohlekontaktofen rasch auf die erforderliche Temperatur aufheizt.

Mit dem Kohlekontaktofen beginnt der 3. Teil der Apparatur, d. i. die Sauerstoffapparatur[2], die in der Literatur bereits mehrfach ausführlich beschrieben wurde. Hier werden die Verbrennungsprodukte Kohlendioxyd und Wasser nacheinander über einer auf 1120° C erhitzten Kohleschicht von 120 mm Länge in Kohlenoxyd umgewandelt und mit Anhydrojodsäure unter Entwicklung äquivalenter Jodmengen oxydiert.

Gegenüber der üblichen Sauerstoffapparatur verwenden wir in diesem Falle an Stelle eines geraden Alkaliröhrchens ein U-Rohr mit 2 Dreiweghähnen. Der Sinn dieser Anordnung ist folgender: Das bei der Kohlenstoffbestimmung aus Kohlendioxyd entstandene Kohlenoxyd ist frei von störenden Begleitgasen und bedarf daher keiner Reinigung durch Alkali mehr. Aus diesem Grunde wird das Kohlenoxyd bei der Kohlenstoffbestimmung direkt, d. h. unter Umgehung der Natronasbestschicht des U-Rohres in das Oxydationsrohr geleitet, was eine Verkürzung der Analysendauer bedeutet. Das Kohlenoxyd aus dem Wasser dagegen enthält Stickstoffverbindungen, die mit der Anhydrojodsäure unter Jodentwicklung reagieren. Bei der Wasserstoffbestimmung wird daher der Gasstrom zwecks Befreiung von diesen störenden Beimengungen durch das U-Rohr in das Oxydationsrohr geleitet.

Bei Analysen mit Substanzmengen von 0,3 bis 1 mg verwenden wir ein Oxydationsrohr mit den in der Literatur für die Mikrosauerstoffbestimmung angegebenen Abmessungen[2, 3].

Bei größeren Substanzeinwaagen dagegen haben wir in Anpassung an die großen Kohlenoxydmengen bei der Kohlenstoffbestimmung ein Oxydationsrohr in Verwendung, dessen Innendurchmesser 13 mm beträgt. Dementsprechend ist auch der Vorratsraum für die Lauge beim Absorptionsrohr für die Kohlenstoffbestimmung auf 45 mm verlängert.

Außer den Öfen der Luft- und Stickstoffvorreinigung werden sämtliche Öfen der Apparatur durch einen Energieregler auf konstanter Temperatur gehalten.

3. Die Reagenzien

Für einen vollen Erfolg mit der vorliegenden jodometrischen C-H-Methode im Sinne einer blindwertfreien Arbeitsweise ist die Verwendung

einwandfreier Reagenzien wie bei der Mikrosauerstoffbestimmung eine unerläßliche Vorbedingung. Da in den vergangenen Jahren hierüber bereits ausführlich berichtet wurde[2], sei an dieser Stelle nur ergänzend auf den Artikel: „Über kristallisierte Anhydrojodsäure als Oxydationsmittel bei der direkten Mikrosauerstoffbestimmung"[3] hingewiesen.

4. Die Vorbereitung der Apparatur und die Ausführung der Analyse

Bei der Beschickung der einzelnen Apparateteile ist vor allem darauf zu achten, daß die Füllmaterialien den Rohrquerschnitt möglichst vollkommen erfüllen, so daß nicht schon von vornherein störende Kanalbildungen vorhanden sind. Dies gilt insbesondere für den Kohlekontakt und die Anhydrojodsäure. Da der Verbrauch an Anhydrojodsäure bei einer Mikro-C-H-Bestimmung ziemlich groß, und zwar etwa 6- bis 7mal so groß als bei einer Mikro-O-Bestimmung ist, muß man auch während des Gebrauches dafür sorgen, daß durch zeitweiliges Nachfüllen die Gefahr einer Kanalbildung stets hintangehalten wird.

Ferner muß insbesondere bei der Füllung des Reaktionsrohres peinlichst vermieden werden, daß Teilchen eines Füllmaterials in die Schicht eines anderen gelangen. Zweckmäßigerweise bringt man die einzelnen Reagenzien mittels eines Trichters, dessen Rohr bis zur kapillaren Verjüngung in das Verbrennungsrohr hineinricht, ein und wischt die an die Rohrwandung emporgewirbelten Teilchen mit Watte aus. Zum Festdrücken einzelner Schichten wie Silberwolle eignet sich am besten ein dicht in das Reaktionsrohr passender, scharfkantig abgeschnittener Stab aus Glas oder V2A-Stahl.

Die Inbetriebnahme einer neu aufgestellten Apparatur erfolgt nun in folgender Weise:

Bei sämtlichen abgeschalteten Öfen entfernt man durch Einschalten des Stickstoffstromes die Luft aus Stickstoffreinigungsanlage, Umkehrspülung und Reaktionsrohr. Sodann wird der Stickstoffreinigungsofen auf 500° C aufgeheizt und der Stickstoff währenddessen durch den seitlichen Ansatz des Reaktionsrohres und dessen offenes Ende ins Freie geleitet. Sobald der Stickstoff völlig von Sauerstoff frei ist, wird er über die Dreiweghähne *3*, *5* und *6* in das Reaktionsrohr geleitet und die Öfen für Kupferoxyd, Kupfer und die Quarzstäbe angeschaltet. Allmählich kommt das in den Füllmaterialien enthaltene Wasser zum Vorschein und wird mit dem beweglichen Brenner durch das offene Reaktionsrohrende ausgetrieben. Hernach setzt man die Verschlußkappe auf, führt den Stickstoffstrom über den Dreiweghahn *4* in das Reaktionsrohr und läßt ihn über die Hähne *6* und *5* ins Freie treten, worauf der Kohlekontaktofen angeschaltet wird. Gleichzeitig wird das Kupfer im Reaktionsrohr etwa 2 bis 3 Stunden lang auf etwa 700° C erhitzt, um die von der Reduktion her in den Poren haftengebliebenen Wasser- und Wasserstoffreste weitestgehend zu entfernen. Nach längerem Laufenlassen der Apparatur, wobei

der Kohlekontakt von den flüchtigen Bestandteilen befreit wird, werden die Öfen zum Erhitzen des Oxydationsrohres und des Kupferoxydrohres der Luftreinigungsanlage angeschaltet.

Bevor man nun zur Kontrolle der Apparatur auf Blindwertfreiheit schreitet, stellt man die Luft und den Stickstoff bei Durchgang durch die gesamte Apparatur auf die vorgeschriebenen Strömungsgeschwindigkeiten ein. Die Kontrolle auf Blindwertfreiheit erfolgt wie bei der Sauerstoffbestimmung durch Ausführung eines Analysenganges ohne Substanz, wobei auf die Verwendung der Verbrennungsluft auch verzichtet werden kann.

Bei der Ausführung des Analysenganges verfährt man auf folgende Weise:

Man schiebt zunächst den Klappofen über den Quarzstäben nach hinten, setzt nach etwa 10 Minuten die Kühlvorrichtung auf das Reaktionsrohr und stellt mittels der Hähne *7* und *8* den direkten Gasdurchgang vom Reaktionsrohr zum Oxydationsrohr her. Nach weiteren 10 Minuten bringt man die Substanzprobe in das Reaktionsrohr, schaltet auf Luft um, schließt das Absorptionsrohr an und setzt den beweglichen Brenner in Betrieb. Während der nun folgenden 20 Minuten erfolgt unter Ablauf des beweglichen Brenners die Substanzverbrennung und die Ausfrierung des entstandenen Wassers durch die Kühlvorrichtung. Das Kohlendioxyd wandert inzwischen weiter über den Kohlekontakt und alsbald ist das Oxydationsrohr von violetten Joddämpfen erfüllt. Wenn der bewegliche Brenner den Langofen erreicht hat, glüht man den leeren Rohrteil noch einmal kurz nach und schaltet auf den Stickstoffstrom um. 15 Minuten später wird das Absorptionsrohr, in dem die dem Kohlenstoff äquivalenten Jodmengen aufgefangen wurden, vom Oxydationsrohr abgenommen und an dessen Stelle das für die H-Bestimmung bestimmte Absorptionsrohr angeschlossen. Gleichzeitig werden die Dreiweghähne *7* und *8* auf Gasdurchgang durch das U-Rohr gestellt, die Kühlvorrichtung vom Reaktionsrohr entfernt und der Klappofen zur Austreibung des Wassers aufgesetzt. Nun wandert das Wasser über den Kohlekontakt und geht unter Reduktion in Kohlenoxyd über, das dann mit der Anhydrojodsäure die äquivalenten Jodmengen für den Wasserstoff liefert. Nach 15 Minuten Austreibungszeit setzt man den Klappofen ab, nach 5 weiteren Minuten wird das Absorptionsrohr abgenommen.

Die Jodtitration erfolgt in der bei der Sauerstoffbestimmung[2] beschriebenen Weise:

Der Absorptionsrohrinhalt wird in ein 300-ml-Erlenmeyerkölbchen gespült, mit 10 ml Brom-Eisessig-Kaliumacetatlösung* versetzt und das überschüssige Brom mit Ameisensäure zerstört. Die hierbei erhaltene

* In 1000 ml auf 60° C erwärmtem Eisessig löst man 100 g Kaliumacetat und fügt nach dem Erkalten etwa 4 ml Brom hinzu.

Jodatlösung wird bei der Kohlenstoffbestimmung auf etwa 150 ml, bei der Wasserstoffbestimmung auf etwa 120 ml aufgefüllt, mit 2 ml 20%iger Schwefelsäure angesäuert, mit festem Kaliumjodid versetzt und in der üblichen Weise mit 0,02-n Thiosulfat titriert. Zur Dosierung der Zugaben von Kaliumjodid — bei der Kohlenstoffbestimmung etwa 600 mg, bei der Wasserstoffbestimmung etwa 300 mg — verwenden wir Glasnäpfchen, die mit einem Stiel versehen sind. Das Fassungsvermögen des einen Näpfchens beträgt zirka 0,32 ml, das des anderen zirka 0,16 ml.

Bei der Kontrolle auf Blindwertfreiheit beträgt die Kaliumjodidzugabe zwecks Vermeidung eines zu großen Überschusses etwa 10 bis 15 mg. Die Apparatur wird als „blindwertfrei" betrachtet, wenn die beim Leerversuch für C und H erhaltenen, zu titrierenden Lösungen auf Stärkezugabe wenigstens einige Minuten vollkommen farblos bleiben[2].

Bei der Analyse beträgt das Titrationsvolumen der C-Bestimmung meist ein Mehrfaches des Titrationsvolumens der H-Bestimmung; man verwendet daher bei Mikroeinwaagen für erstere eine Makrobürette (50 ml), für letztere eine Mikrobürette (10 ml). Für Ultramikro-Bestimmungen mit Substanzmengen von 0,2 bis 0,3 mg, wobei man mit 0,01-n Thiosulfat titriert, genügt eine Mikrobürette (10 ml).

Die von uns verwendeten Büretten haben automatische Nulleinstellung; um die Veränderung des Titers möglichst zu vermeiden, wird die Titrierflüssigkeit mit Stickstoff in die Bürette gedrückt.

Die Bürettenablesung bei der Analyse erfolgt wie bei der Titerstellung unter Berücksichtigung des Nachlaufes jeweils 10 Minuten nach Beendigung der Titration. Den Parallaxenfehler kann man hierbei leicht unter Zuhilfenahme einer Ableselupe ausschließen.

Die Dauer einer Analyse in der Serie beträgt 75 Minuten, da Einwaage und Titrationen während des Ablaufes der Apparatur durchgeführt werden können.

Die für unsere Apparatur angegebenen Abmessungen entsprechen dem Mikromaßstab mit der Normaleinwaage von zirka 4 mg Substanz. Damit können, wie unter B gezeigt, auch Analysen mit Substanzmengen bis herunter auf zirka 0,1 mg durchgeführt werden. Für Analysen mit Substanzmengen von 0,1 bis 0,3 mg wäre es jedoch zweckmäßiger, eine Apparatur mit entsprechend verkleinerten Abmessungen zu verwenden, womit eine Verkürzung der Arbeitszeit und wahrscheinlich auch eine Erhöhung der Genauigkeit erreicht würde.

5. Ergebnisse

Für die vorliegende jodometrische Methode zur Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes in organischen Substanzen ist die Beherrschung der blindwertfreien Mikrosauerstoffmethodik[2] eine Voraussetzung, soll damit mehr erreicht werden als mit der gravimetrischen Arbeitsweise. Bei deren Entwicklung kam es uns in Anbetracht der gün-

stigen Umstände, wie große Übersetzungsverhältnisse, Kontrolle auf Blindwertfreiheit, jodometrische Titration usw. in erster Linie auf eine Erhöhung der Analysengenauigkeit an. Hand in Hand damit geht die Verringerung der Analysensubstanzmenge.

Die unter A angeführten Analysen sind mit normalen Mikroeinwaagen von Substanzen durchgeführt, die neben C und H auch noch O, N, S oder Halogen enthalten. Die Analysen zeigen, wie es in der Praxis die Regel ist, daß die C-Werte bis etwa 0,1% absolut, die H-Werte bis etwa 0,03% absolut über den berechneten gefunden werden. Dies ist auch bei extrem kleinen Wasserstoffgehalten der Fall, wie die Beispiele Trichlordinitrobenzol und Anhydrojodsäure erkennen lassen. Bei wasserstofffreien Substanzen, wie Chloranil, werden nur 0,01 bis 0,02% H erhalten. Es kommt selten vor, daß die Abweichungen nach oben noch größer ausfallen, oder daß die gefundenen Werte unter den theoretischen liegen. In solchen Fällen ist es wahrscheinlich, daß die Abweichungen durch einen Einwaagefehler bedingt sind.

Neben den üblichen Prozentzahlen ist jeweils auch das aus den Titrationsvolumina für C und H nach Gleichung 3 direkt ermittelte Atomverhältnis C : H angegeben, dem naturgemäß weder Einwaagefehler noch Titerfehler anhaften, während das Prozentresultat durch solche Fehler beeinträchtigt sein kann. Im Mikromaßstab ist dies nur zu befürchten, wenn bei ungünstigen Wägeverhältnissen kleine Einwaagen gemacht werden müssen. So verursacht z. B. bei der Analyse von 3,000 mg Anthracen ein Einwaagefehler von 5 μg im Kohlenstoffresultat bereits einen Fehler von 0,15% absolut. Bei einer Anthraceneinwaage von 0,3 mg macht der gleiche Einwaagefehler schon eine Abweichung von 1,5% C aus. Im Falle so kleiner Substanzmengen, wobei die Genauigkeit der gewöhnlichen Mikrowaage zur Erzielung brauchbarer Prozentzahlen bei weitem nicht mehr ausreicht, kann *das Atomverhältnis C : H*, wie aus unseren unter B angegebenen Ultramikroanalysen zu ersehen ist, *noch einwandfrei und ohne Schwierigkeiten* erhalten werden. Neben organischen Substanzen verschiedener Zusammensetzung sind hierfür auch reine Kohlenwasserstoffe verwendet worden. Bei solchen Substanzen, die ausschließlich nur aus Kohlenstoff und Wasserstoff bestehen, können auch die Prozentzahlen für Kohlenstoff und Wasserstoff aus den Titrationsvolumina ohne Bezugnahme auf das Substanzgewicht erhalten werden nach dem Schema:

$$\%\,\mathrm{C} = \frac{2{,}502 \cdot \mathrm{ml_H}}{0{,}02502 \cdot \mathrm{ml_C} + 0{,}0084 \cdot \mathrm{ml_H}}, \tag{4}$$

$$\%\,\mathrm{H} = \frac{0{,}84 \cdot \mathrm{ml_C}}{0{,}02502 \cdot \mathrm{ml_C} + 0{,}0084 \cdot \mathrm{ml_H}}. \tag{5}$$

Hierbei kommt der Einwaagefehler also auch für Prozentresultate in Wegfall, so daß die Prozentresultate dieselbe Genauigkeit aufweisen wie

die Verhältnisresultate. Demgemäß erhalten wir, wie die Beispiele von Anthracen, Naphthalin, Phenanthren und Diphenyl zeigen, sehr genaue Prozentzahlen für C und H; die größte Abweichung beträgt nur 0,08% absolut. Die auf die Einwaage berechneten Prozentzahlen dagegen weisen infolge von Einwaagefehlern Abweichungen von mehreren Prozenten auf.

Sämtliche Substanzeinwaagen wurden mit einer gewöhnlichen Mikrowaage durchgeführt.

Der Titer der 0,02-n Thiosulfatlösung, mit der die Mikroversuche ausgeführt wurden, betrug 0,9934, während das bei den Ultramikroversuchen verwendete 0,01-n Thiosulfat exakt 0,01-n war.

Nach privaten Mitteilungen hat sich die vorliegende jodometrische C-H-Methode in den Laboratorien von Herrn Dr. *F. Pascher*, Bonn, Herrn Prof. Dr. *K. J. Karrman*, Universität Lund, Schweden, und Herrn Dipl.-Ing. *W. Manser*, ETH, Zürich, Schweiz, insbesondere bei kleinen Substanzmengen sehr gut bewährt.

A. Mikroversuche

Phthalimid, $C_8H_5NO_2$

Einwaage: 3,500 mg: $ml_C = 46{,}02$, $ml_H = 7{,}20$

Gef.: 65,36% C, 3,43% H

Ber.: 65,30% C, 3,43% H

Nach (3) $C : H = \frac{46{,}02}{4} : 7{,}20$ =

$= 1 : 0{,}6258$
$= 2 : 1{,}2516$
$= 3 : 1{,}8774$
$= 4 : 2{,}5032$
$= 5 : 3{,}1290$
$= 6 : 3{,}7548$
$= 7 : 4{,}3806$
$= 8 : 5{,}0064$ C_8H_5
$= 9 : 5{,}6322$
$= 10 : 6{,}2580$

Acetanilid, C_8H_9NO

Einwaage: 3,178 mg: $ml_C = 45{,}50$, $ml_H = 12{,}78$

Gef.: 71,17% C, 6,71% H

Ber.: 71,09% C, 6,71% H

Nach (3) $C : H = \frac{45{,}50}{4} : 12{,}78$ =

$= 1 : 1{,}124$
$= 2 : 2{,}248$
$= 3 : 3{,}372$
$= 4 : 4{,}496$
$= 5 : 5{,}620$
$= 6 : 6{,}744$
$= 7 : 7{,}868$
$= 8 : 8{,}992$ C_8H_9
$= 9 : 10{,}216$

Dinitrodiphenylsulfid, $C_{12}H_8N_2O_4S$

Einwaage: 4,380 mg: $ml_C = 46{,}02$, $ml_H = 7{,}62$
Gef.: 52,23% C, 2,90% H
Ber.: 52,17% C, 2,92% H

Nach (3) $C : H = \frac{46{,}02}{4} : 7{,}62 =$

$= 1 : 0{,}662$
$= 2 : 1{,}324$
$= 3 : 1{,}986$ C_3H_2
$= 4 : 2{,}648$
$= 5 : 3{,}310$
$= 6 : 3{,}972$ C_6H_4
$= 7 : 4{,}634$
$= 8 : 5{,}292$
$= 9 : 5{,}958$ C_9H_6
$= 10 : 6{,}620$
$= 11 : 7{,}282$
$= 12 : 7{,}944$ $C_{12}H_8$
$= 13 : 8{,}606$

Dinitrodiphenylsulfid, $C_{12}H_8N_2O_4S$

Einwaage: 4,362 mg: $ml_C = 45{,}74$, $ml_H = 7{,}64$
Gef.: 52,13% C, 2,92% H
Ber.: 52,17% C, 2,92% H

Nach (3) $C : H = \frac{45{,}74}{4} : 7{,}64 =$

$= 1 : 0{,}668$
$= 2 : 1{,}336$
$= 3 : 2{,}004$ C_3H_2
$= 4 : 2{,}672$
$= 5 : 3{,}340$
$= 6 : 4{,}008$ C_6H_4
$= 7 : 4{,}676$
$= 8 : 5{,}344$
$= 9 : 6{,}012$ C_9H_6
$= 10 : 6{,}680$
$= 11 : 7{,}348$
$= 12 : 8{,}016$ $C_{12}H_8$
$= 13 : 8{,}684$

Trichlordinitrobenzol, $C_6HN_2O_4Cl_3$

Einwaage: 8,422 mg: $ml_C = 45{,}12$, $ml_H = 1{,}97$
Gef.: 26,63% C, 0,39% H
Ber.: 26,55% C, 0,37% H

Nach (3) $C : H = \frac{45{,}12}{4} : 1{,}97$ = 1 : 0,1746
= 2 : 0,3492
= 3 : 0,5238
= 4 : 0,6984
= 5 : 0,8730
= 6 : 1,0476 C_6H
= 7 : 1,2222
= 8 : 1,3968
= 9 : 1,5714
= 10 : 1,7460

Trichlordinitrobenzol, $C_6HN_2O_4Cl_3$

Einwaage: 5,394 mg: ml_C = 28,90, ml_H = 1,31
Gef.: 26,63% C, 0,41% H
Ber.: 26,55% C, 0,37% H

Nach (3) $C : H = \frac{28{,}90}{4} : 1{,}31$ = 1 : 0,1813
= 2 : 0,3626
= 3 : 0,5439
= 4 : 0,7252
= 5 : 0,9065
= 6 : 1,0878 C_6H
= 7 : 1,2691
= 8 : 1,4504
= 9 : 1,6317
= 10 : 1,8130

Sulfanilsäure, $C_6H_7NO_3S$

Einwaage: 5,378 mg: ml_C = 45,10, ml_H = 13,14
Gef.: 41,70% C, 4,08% H
Ber.: 41,61% C, 4,08% H

Nach (3) $C : H = \frac{45{,}10}{4} : 13{,}14$ = 1 : 1,1654
= 2 : 2,3308
= 3 : 3,4962
= 4 : 4,6616
= 5 : 5,8270
= 6 : 6,9924 C_6H_7
= 7 : 8,1578
= 8 : 9,3232
= 9 : 10,4886

Anhydrojodsäure, HJ_3O_8

Einwaage: 13,330 mg: ml_H = 1,64
Gef.: 0,205% H
Ber.: 0,198% H

Chloranil, $C_6O_2Cl_4$

Einwaage: 7,294 mg: ml_C = 42,99, ml_H = 0,07
Gef.: 29,30% C, 0,016% H
Ber.: 29,31% C, 0,00% H

B. Ultramikroversuche

Phthalimid, C_8H_5NO

Einwaage: 0,326 mg: ml_C = 8,57, ml_H = 1,34
Gef.: 65,77% C, 3,45% H
Ber.: 65,30% C, 3,43% H

Nach (3) $C : H = \frac{8,57}{4} : 1,34$ = 1 : 0,625
= 2 : 1,250
= 3 : 1,875
= 4 : 2,500
= 5 : 3,125
= 6 : 3,750
= 7 : 4,375
= 8 : 5,000 C_8H_5
= 9 : 5,625
= 10 : 6,250

Acetanilid, C_8H_9NO

Einwaage: 0,324 mg: ml_C = 9,38, ml_H = 2,64
Gef.: 72,43% C, 6,84% H
Ber.: 71,09% C, 6,71% H

Nach (3) $C : H = \frac{9,38}{4} : 2,64$ = 1 : 1,126
= 2 : 2,252
= 3 : 3,378
= 4 : 4,504
= 5 : 5,630
= 6 : 6,756
= 7 : 7,882
= 8 : 9,008 C_8H_9
= 9 : 10,134
= 10 : 11,260

Nicotinsäure, $C_6H_5NO_2$

Einwaage: 0,350 mg: ml_C = 8,28, ml_H = 1,74
Gef.: 59,19% C, 4,18% H
Ber.: 58,53% C, 4,09% H

Nach (3) $C : H = \frac{8{,}28}{4} : 1{,}74 =$ 1 : 0,841
= 2 : 1,682
= 3 : 2,523
= 4 : 3,364
= 5 : 4,205
= 6 : 5,046 C_6H_5
= 7 : 5,887
= 8 : 6,728
= 9 : 7,569
= 10 : 8,410

m-Nitranilin, $C_6H_6N_2O_2$

Einwaage: 0,448 mg: ml_C = 9,34, ml_H = 2,32
Gef.: 52,16% C, 4,35% H
Ber.: 52,17% C, 4,38% H

Nach (3) $C : H = \frac{9{,}34}{4} : 2{,}32 = 1 : 0{,}994$

m-Nitranilin, $C_6H_6N_2O_2$

Einwaage: 0,436 mg: ml_C = 9,24, ml_H = 2,32
Gef.: 53,02% C, 4,47% H
Ber.: 52,17% C, 4,38% H

Nach (3) $C : H = \frac{9{,}24}{4} : 2{,}32 = 1 : 1{,}004$

Anthracen, $C_{14}H_{10}$

Einwaage: 0,260 mg: ml_C = 9,56, ml_H = 1,72
Gef.: 92,00% C, 5,56% H
Ber.: 94,34% C, 5,66% H

Nach (3) $C : H = \frac{9{,}56}{4} : 1{,}72 =$ 1 : 0,720
= 2 : 1,440
= 3 : 2,160
= 4 : 2,880
= 5 : 3,600
= 6 : 4,320
= 7 : 5,040 C_7H_5
= 8 : 5,760
= 9 : 6,480
= 10 : 7,200

Nach (4) und (5) Gef.: 94,30% C, 5,70% H

Anthracen, $C_{14}H_{10}$

Einwaage: 0,234 mg: ml_C = 8,98, ml_H = 1,63
Gef.: 96,01% C, 5,85% H
Ber.: 94,34% C, 5,66% H

Nach (3) $C:H = \frac{8{,}98}{4} : 1{,}63$ = 1 : 0,726
= 2 : 1,452
= 3 : 2,178
= 4 : 2,904
= 5 : 3,630
= 6 : 4,356
= 7 : 5,082 C_7H_5
= 8 : 5,808
= 9 : 6,534
= 10 : 7,260

Nach (4) und (5) Gef.: 94,26% C, 5,74% H

Phenanthren, $C_{14}H_{10}$

Einwaage: 0,262 mg: ml_C = 9,96, ml_H = 1,79
Gef.: 95,11% C, 5,74% H
Ber.: 94,34% C, 5,66% H

Nach (3) $C:H = \frac{9{,}96}{4} : 1{,}79$ = 1 : 0,719
= 2 : 1,438
= 3 : 2,157
= 4 : 2,876
= 5 : 3,595
= 6 : 4,314
= 7 : 5,033 C_7H_5
= 8 : 5,752
= 9 : 6,471
= 10 : 7,190

Nach (4) und (5) Gef.: 94,31% C, 5,69% H

Phenanthren, $C_{14}H_{10}$

Einwaage: 0,260 mg: ml_C = 10,04, ml_H = 1,81
Gef.: 96,61% C, 5,85% H
Ber.: 94,34% C, 5,66% H

Nach (3) $C:H = \frac{10{,}04}{4} : 1{,}81$ = 1 : 0,721
= 2 : 1,442
= 3 : 2,163
= 4 : 2,884
= 5 : 3,605
= 6 : 4,326
= 7 : 5,047 C_7H_5
= 8 : 5,768
= 9 : 6,479
= 10 : 7,210

Nach (4) und (5) Gef.: 94,29% C, 5,71% H

Naphthalin, $C_{10}H_8$

Einwaage: 0,240 mg: ml_C = 8,68, ml_H = 1,73
Gef.: 90,48% C, 6,06% H
Ber.: 93,71% C, 6,29% H

Nach (3) $C : H = \frac{8,68}{4} : 1,73$ = 1 : 0,797
= 2 : 1,594
= 3 : 2,391
= 4 : 3,188
= 5 : 3,985 C_5H_4
= 6 : 4,782
= 7 : 5,579
= 8 : 6,376
= 9 : 7,173
= 10 : 7,970 $C_{10}H_8$
= 11 : 8,767

Nach (4) und (5) Gef.: 93,73% C, 6,27% H

Naphthalin, $C_{10}H_8$

Einwaage: 0,170 mg: ml_C = 6,37, ml_H = 1,28
Gef.: 93,75% C, 6,32% H
Ber.: 93,71% C, 6,29% H

Nach (3) $C : H = \frac{6,37}{4} : 1,28$ = 1 : 0,8038
= 2 : 1,6076
= 3 : 2,4114
= 4 : 3,2152
= 5 : 4,0190 C_5H_4
= 6 : 4,8228
= 7 : 5,6266
= 8 : 6,4304
= 9 : 7,2342
= 10 : 8,0380 $C_{10}H_8$
= 11 : 8,8418

Nach (4) und (5) Gef.: 93,68% C, 6,32% H

Diphenyl, $C_{12}H_{10}$

Einwaage: 0,260 mg: ml_C = 9,17, ml_H = 1,91
Gef.: 88,24% C, 6,17% H
Ber.: 93,46% C, 6,54% H

Nach (3) $C : H = \frac{9,17}{4} : 1,91$ = 1 : 0,833
= 2 : 1,666
= 3 : 2,499
= 4 : 3,332
= 5 : 4,165
= 6 : 4,998 C_6H_5

Nach (3) $C:H = \frac{9,17}{4} : 1,91 =$ 7 : 5,831
= 8 : 6,664
= 9 : 7,497
= 10 : 8,330

Nach (4) und (5) Gef.: 93,46% C, 6,54% H

Diphenyl, $\underline{C_{12}H_{10}}$

Einwaage: 0,236 mg: $ml_C =$ 8,96, $ml_H =$ 1,85
Gef.: 94,99% C, 6,58% H
Ber.: 93,46% C, 6,54% H

Nach (3) $C:H = \frac{8,96}{4} : 1,85 =$ 1 : 0,826
= 2 : 1,652
= 3 : 2,478
= 4 : 3,304
= 5 : 4,130
= 6 : 4,956 $\underline{C_6H_5}$
= 7 : 5,782
= 8 : 6,608
= 9 : 7,434
= 10 : 8,260

Nach (4) und (5) Gef.: 93,52% C, 6,48% H

Zusammenfassung

Die jodometrische Mikro-C-H-Bestimmungsmethode wird ausführlich beschrieben. Danach wird die Substanz im Luftstrom verbrannt und die Verbrennungsprodukte Kohlendioxyd und Wasser getrennt nach dem Prinzip der direkten Sauerstoffbestimmung quantitativ bestimmt. Die Trennung des Wassers vom Kohlendioxyd erfolgt durch Ausfrieren des ersteren bei —70° C mit einer eigens hierfür entwickelten Kühlvorrichtung. Halogene werden durch metallisches Silber, Schwefel durch Bleichromat entfernt. Die Absorption des überschüssigen Sauerstoffes und die Zerlegung der Stickoxyde erfolgt durch erhitztes Kupfer. Als Transportgas dient Reinstickstoff. Die Apparatur besteht aus den Reinigungsanlagen für Luft und Stickstoff, der Verbrennungsapparatur und der daran anschließenden Apparatur zur direkten Sauerstoffbestimmung. Die Abmessungen der einzelnen Apparaturteile sind angegeben. Die Dauer einer Analyse beträgt etwa 75 Minuten. Bei Verwendung von 3 bis 4 mg Substanz beträgt die Genauigkeit beim Kohlenstoff $\pm$ 0,1% absolut, beim Wasserstoff $\pm$ 0,04% absolut. Die Methode gestattet ferner, das Atomverhältnis C : H einer organischen Substanz im Mikromaßstab und mit Substanzmengen von 0,1 bis 0,3 mg aus den Titrationsvolumina für C und H allein, d. h. ohne Waage und ohne Kenntnis des Thiosulfattiters zu bestimmen, wobei Einwaagefehler und Titerfehler wegfallen. Beleganalysen werden angegeben.

Summary

The iodometric micromethod of determining carbon and hydrogen is described in detail. In it the sample is burned in a stream of air and the combustion products are determined quantitatively and separately by the direct determination of oxygen. The water is separated from the carbon dioxide by freezing it out at — 70° in a cooling device developed especially for this purpose. Halogens are removed by metallic silver, sulfur with lead chromate. The absorption of the excess oxygen and the decomposition of the nitrogen oxides is by means of heated copper. Pure nitrogen is used as carrier gas. The apparatus consists of the purification devices for air and nitrogen, the combustion apparatus, and the connected apparatus for the direct determination of oxygen. The dimensions of the various apparatus parts are given. An analysis requires about 75 minutes. When a sample of 3 to 4 mg is used, the accuracy of the carbon determination is ± 0.1% absolute; for hydrogen ± 0.04% absolute. Moreover, the method can be used to determine the atomic ratio C : H of an organic material on the microscale, and with samples of 0.1 to 0.3 mg, without knowing the weight of the sample or the strength of the thiosulfate solution. This latter procedure employs the titration volumes for carbon and hydrogen separately and eliminates the weighing error and the titration error. Check analyses are given.

Résumé

Description détaillée de la méthode iodométrique de microdosage du carbone et de l'hydrogène. La substance est brûlée dans un courant d'air et ses produits de combustion, anhydride carbonique et eau, sont séparés et dosés quantitativement d'après le principe du dosage direct de l'oxygène. L'eau est séparée de l'anhydride carbonique par congélation à — 70° C dans un dispositif refroidisseur spécialement étudié à cette fin. Les halogènes sont éliminés par fixation sur argent métallique et le soufre sur chromate de plomb. L'absorption de l'excès d'oxygène et la destruction des oxydes de l'azote est effectuée par passage sur du cuivre à chaud. L'azote pur est employé comme gaz de transport. L'appareil se compose d'annexes de purification de l'air et de l'azote et de l'appareil de combustion auquel fait immédiatement suite l'appareil de dosage direct de l'oxygène. L'auteur indique les dimensions des différentes parties de l'appareil. La durée de l'analyse est d'environ 75 minutes. Pour des prises d'essai de 3 à 4 mg, la précision est définie par des intervalles de variations absolues de ± 0,1% pour la teneur centésimale en carbone et de ± 0,04% pour la teneur centésimale en hydrogène. La méthode permet en outre de déterminer le rapport des nombres d'atomes de carbone et d'hydrogène d'une substance organique soit à l'échelle microanalytique, soit encore sur des prises d'essai de 0,1 à 0,3 mg, en fonction des volumes de réactif titrant consommés pour chacun des deux dosages; il n'est pas alors nécessaire de disposer d'une balance ou de connaître le titre du thiosulfate ce qui élimine les erreurs de pesées de la prise d'essai ainsi que les erreurs commises sur la détermination du titre. L'auteur communique des résultats d'analyse justificatifs.

Literatur

[1] *J. Unterzaucher*, Chem. Ing. Techn. **22**, 39 (1950); Mikrochem. **36/37**, 706 (1951).

[2] *J. Unterzaucher*, Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 391 (1940); Analyst **77**, 584 (1952); Bull. soc. chim. France **1953**, C, 71.

[3] *J. Unterzaucher*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 822.

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut und Pregl-Laboratorium der Universität Graz

Die papierchromatographische Trennung der höheren Fettsäuren und ihrer Glyceride*

Von

A. Holasek und **J. Fries**

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 28. Februar 1957)

Die ungesättigten Fettsäuren lassen sich am Papierchromatogramm in der Art nachweisen, daß man sie mit Ozon spaltet und die so entstandenen Aldehyde mit Pararosanilin-schwefeliger Säure anfärbt[1]. Die Flecke der einfach ungesättigten Fettsäuren sind blau und die der mehrfach ungesättigten rotviolett gefärbt. Diese von der Carboxylgruppe unabhängige, sehr empfindliche Reaktion eignet sich auch für das Sichtbarmachen der Ester ungesättigter Fettsäuren, und daher versuchten wir, Glyceride und andere Ester höherer ungesättigter Fettsäuren papierchromatographisch zu trennen. Die Trennung der Mono-, Di- und Triglyceride sowie der freien Säuren benötigt man bei der Untersuchung der Lipasewirkung und der Fettresorption. Bisher gelang die Trennung der Glyceride mit Hilfe der Säulenchromatographie und der Gegenstromverteilung[2]. Diese Methoden erfordern jedoch größere Mengen Material und außerdem auch mehr Zeit als die Trennung auf papierchromatographischem Wege. Im nachfolgenden wird über erfolgreiche Versuche zur Trennung der Mono-, Di- und Triglyceride und der freien Säuren auf einem oder zwei Papierchromatogrammen berichtet.

Die höheren Fettsäuren lassen sich mit Hilfe der Papierchromatographie mit umgekehrten Phasen (inversed phase) trennen. Als stationäre Phase dient Paraffin, mit dem man das Papier imprägniert. Die bewegliche Phase besteht aus einer mit Paraffin gesättigten 90%igen Essigsäure. Die Methode liefert sehr gute Trennungen der Säuren mit 10 bis 22 Kohlen-

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

stoffatomen. Nur die ungesättigten Säuren fallen meist mit den gesättigten zusammen. So liegen z. B. einerseits die Öl- und Palmitinsäure und andererseits die Linol-, Palmitol- und Myristinsäure auf je einem Fleck beisammen. Den höchsten R_f-Wert zeigen die Oxydationsprodukte der ungesättigten Fettsäuren, die man als gut abgetrennte Flecke mit einem R_f-Wert von etwa 0,8 findet. Sie entstehen, wenn die Fettsäurelösung längere Zeit gestanden ist oder beim Verarbeiten des Materials eine Oxydation eintrat.

Versuche, die Ester der Säuren auf die gleiche Art zu trennen, hatten Erfolg. Man findet eine Differenz in den R_f-Werten der freien Säure, des Methylesters und des Äthylesters. Die R_f-Werte nehmen in der genannten Reihenfolge etwa so ab, als würde es sich um eine einfache Zunahme der Kettenlänge handeln. Viel besser ließen sich die Glyceride trennen, und zwar auch dann, wenn ein Gemisch von Glyceriden verschiedener Säuren vorlag.

Papier und Reagenzien

Das Papier S & S 2043b wird langsam durch eine 10%ige Lösung von Paraffinum liquidum in Petroläther gezogen und an der Luft getrocknet. Das käufliche, in der Pharmakopoe übliche Paraffin muß zunächst, wie bereits beschrieben[1], von ungesättigten Verbindungen befreit werden. Wir ziehen das Paraffin dem „standardisierten Undecan"[3] vor, da es weniger flüchtig und die Imprägnierung daher einfacher ist. Außerdem wandert die bewegliche Phase darauf rascher und die Trennung ist schärfer.

Als bewegliche Phase wurden zwei Lösungsmittel verwendet, nämlich Essigsäure und Isopropanol.

1. Die Essigsäure stellt man sich her, indem man 90 Volumteile Eisessig und 10 Teile Wasser mischt, dem Gemisch einige ml des gereinigten Paraffins zusetzt und gut durchschüttelt. Nach der Klärung der Emulsion trennt man die Essigsäure von den darauf schwimmenden Paraffintropfen.

2. Aus Isopropanol, Methanol und Wasser kann man einige Gemische herstellen. Verwendet man ein Gemisch von Isopropanol-Methanol-Wasser im Volumverhältnis 55 : 25 : 20, so lassen sich die freien ungesättigten Fettsäuren von den Monoglyceriden nicht gut trennen, besser jedoch die Diglyceride von den Triglyceriden. Verändert man das Gemisch auf 55 : 25 : 30 oder sogar 55 : 25 : 40, so trennen sich auch die Säuren von den Monoglyceriden sehr gut.

Das Monoglycerid stellten wir uns zunächst aus dem α-Monochlorhydrin und dem Natriumsalz der Säure her. Das Präparat enthielt jedoch auch Di- und Triglyceride und freie Säure. Ein auch ohne Umkristallisieren fast ganz reines Präparat erhält man aus Acetonglycerin und dem Säurechlorid[4]. Das Diglycerid wurde aus dem 2,3-Dibrompropanol dargestellt. An Stelle des Triglycerids wurde frisches Olivenöl verwendet.

Anfärbung der Chromatogramme

Um eine gleichmäßige Anfärbung der einzelnen Ester und der freien ungesättigten Säure zu erzielen, empfiehlt es sich, wie folgt vorzugehen: Das entwickelte und getrocknete Papierchromatogramm wird durch 15 bis 20 Minuten einer kräftigen Ozonatmosphäre ausgesetzt und sogleich mit einer 0,1%igen Lösung von Pararosanilin in Isopropanol, dem etwas Eisessig und Salzsäure zugesetzt wurden, besprüht. Nach 5 bis 10 Minuten besprüht man die Streifen mit einer 5%igen Lösung von Natriumhydrogensulfit in etwa 0,2-n Salzsäure. Es tritt eine kräftige Rotfärbung des ganzen Papiers auf; die Flecke der ungesättigten Verbindungen erscheinen violett. Meist wird dabei auch eine Entmischungsfront etwa 5 cm hinter der Lösungsmittelfront sichtbar, die jedoch nicht stört. Nach abermals 5 Minuten wird der Streifen mit einer 0,4-n Salzsäure besprüht. Nun tritt eine Violettfärbung des ganzen Streifens ein. Die Flecke werden dabei dunkelblau. Die Entmischungsfront wird noch deutlicher sichtbar, verschwindet aber zusammen mit der violetten Farbe des Hintergrundes nach etwa 30 bis 60 Minuten, wenn der Streifen ganz trocken ist. Im Laufe von 1 bis 2 Tagen verfärbt sich der Untergrund wieder violett, so daß die Flecke immer undeutlicher werden. Man kann den Untergrund etwas bleichen, wenn man nun wieder mit 0,4-n Salzsäure besprüht, der etwas Hydrogensulfit zugesetzt wurde.

Die freien Säuren färbten wir nach der von *Kaufmann* und *Nitsch*[3] angegebenen Methode mit Kupferacetat und anschließend mit Kaliumcyanoferrat(II) an. So kann man am Papier die Ester, die mit Kupferacetat nicht reagieren, von den Säuren unterscheiden, wenn man ein Chromatogramm nach dieser Methode und das andere nach dem Ozonisieren mit Schiffschem Reagens anfärbt.

Die Monoglyceride kann man, sofern α-Monoglyceride enthalten sind, wie die mehrwertigen Alkohole nach Behandlung mit Kaliumperjodat und anschließendem Besprühen mit Kaliumjodid-Stärke-Lösung als weiße Flecke auf blauem Hintergrund darstellen[5].

Ergebnisse

Es wurde in gut schließenden Zylindern absteigend chromatographiert. Nach 14 bis 18 Stunden ist die Lösungsmittelfront etwa 30 cm vom Startpunkt gewandert, wenn man die Essigsäurephase verwendet. Die Isopropanolphase wandert etwas langsamer.

Ohne Rücksicht darauf, welche von den beschriebenen beweglichen Phasen verwendet wird, findet man die Triglyceride immer am Startpunkt. Es folgen die Diglyceride, dann die freie Säure und schließlich mit dem höchsten R_f-Wert die Monoglyceride, die bei der Isopropanolphase dicht an der Front sitzen.

Nach Entwicklung mit einer Isopropanol-Methanol-Wasser-Phase im Volumverhältnis 55 : 25 : 30 erhält man (Abb. 1) unter a) das Ölsäuremonoglycerid und unter b) ein Gemisch aus (wenig) Triglycerid, Diglycerid, Ölsäure, Linolsäure (wenig) und Monoglycerid. Die Abb. 2 zeigt die Trennung der Eruca-, Öl- und Linolsäure bei Verwendung der gleichen Phase. Wie man sieht, liegen die Säuren zwischen den Diglyceriden und den Monoglyceriden. Man kann also mit dieser Phase auch die Säuren trennen. Die Flecke werden jedoch sehr breit, so daß die Trennung, besonders dann, wenn auch die gesättigten Säuren aufgetragen werden, schlechter ist als bei Verwendung der Essigsäure als beweglicher Phase. Die Abb. 3 zeigt verschiedene Mengen eines Gemisches der

Abb. 1.

Abb. 2.

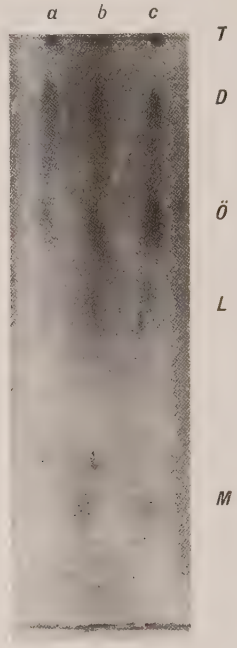


Abb. 3.

Absteigend entwickelte Papierchromatogramme mit Paraffin als stationärer Phase
Anfärbung mit Pararosanilin-schwefeliger Säure nach Ozonspaltung
T Triglycerid, *D* Diglycerid, *M* Monoglycerid, *E* Erucasäure, *Ö* Ölsäure, *L* Linolsäure
Abb. 1 und 2. Bewegliche Phase: Isopropanol : Methanol : Wasser im Volumverhältnis 55 : 25 : 30
Abb. 3. Chromatogramm eines durch Hydrolyse aus Olivenöl entstandenen Gemisches
Bewegliche Phase: 90%ige Essigsäure
a) 100 μg des Gemisches, b) 200 μg des Gemisches, c) 100 μg des Gemisches unter Zusatz von 20 μg Ölsäure

Glyceride und der freien Ölsäure mit einer geringen Menge Linolsäure. Als bewegliche Phase diente 90%ige Essigsäure. Durch Zusatz reiner Ölsäure auf den Startpunkt c konnte der Ölsäurefleck verstärkt werden. Man findet eine sehr gute Trennung der Triglyceride von den Diglyceriden. Wenn jedoch außer der Ölsäure bei der Spaltung des Fettes auch Stearinsäure und höhere Säuren entstehen, so befinden sich diese im Fleck des Diglycerids. In diesem Falle kann man die Säuren auf einem zweiten Chromatogramm mit Kupferacetat und Kaliumcyanoferrat(II) darstellen, außerdem aber auch mit der Isopropanolphase von den Diglyceriden trennen.

Enthält ein Gemisch von Glyceriden auch Oxydationsprodukte der ungesättigten Fettsäuren, so wird man diese ohne Rücksicht darauf, welche Phase verwendet wird, im Fleck der Monoglyceride oder in dessen Nähe finden.

Es sei noch erwähnt, daß der Fleck, den man nach der Ozoneinwirkung auf Monoglyceride und Anfärbung mit Pararosanilin-schwefeliger Säure am Papier bekommt, so rotviolett ist wie der der Linolsäure und anderer mehrfach ungesättigter Fettsäuren.

Zusammenfassung

Auf Papieren, die mit flüssigem Paraffin imprägniert sind, werden die Mono-, Di- und Triglyceride sowie die freien Säuren getrennt. Als bewegliche Phasen werden entweder 90%ige Essigsäure oder Isopropanol-Methanol-Wasser-Gemische verwendet. Die Anfärbung der Chromatogramme erfolgt in der Hauptsache nach Spaltung durch Ozon mit Pararosanilin-schwefeliger Säure.

Summary

The mono-, di-, and triglycerides, as well as the free acids were separated on papers impregnated with liquid paraffin. Either 90% acetic acid or isopropanol-methanol-water mixtures were employed as mobile phases. The tinting of the chromatogram was principally accomplished, after cleavage with ozone, with para-rosaniline-sulfurous acid.

Résumé

Séparation des mono-, di- et triglycerides ainsi que des acides libres sur des papiers imprégnés de paraffine liquide. On emploie l'acide acétique à 90% ou le mélange isopropanol-méthanol-eau comme phase mobile. La coloration du chromatogramme résulte essentiellement de l'action de la pararosaniline et de l'acide sulfureux après rupture par l'ozone.

Literatur

[1] *J. Fries, A. Holasek* und *H. Lieb*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1722.
[2] *B. Borgström*, Acta Chem. Scand. **7**, 557 (1953).
[3] *H. P. Kaufmann* und *W. H. Nitsch*, Fette und Seifen **56**, 154, 234 (1954).
[4] *G. Rosenthal* und *H. Trautwein*, Ber. d. mathemat.-physikalischen Klasse der Sächs. Akad. d. Wissenschaften Leipzig **86**, 325 (1934).
[5] *J. English*, Jr., und *I. Delafield-Gregory*, J. Amer. Chem. Soc. **69**, 2120 (1947).

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut und Pregl-Laboratorium der Universität Graz

Ein einfaches Gerät zum gleichmäßigen, strichförmigen Auftragen in der Papierchromatographie*

Von

W. Merz

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 28. Februar 1957)

Zur präparativen Auftrennung von Substanzgemischen in Mengen über 1 mg versagt die übliche papierchromatographische Methodik, da das punktförmige Auftragen so großer Mengen nur eine minimale Trennung erlaubt und zudem eine meist stärkere Schwanzbildung die genaue Bestimmung der R_f-Werte unmöglich macht. Einen Ausweg liefert die Säulenchromatographie unter Anwendung verschiedener Trägersubstanzen. Diese Methode erfordert jedoch zur ausreichenden Fraktionierung eine große Menge Substanz, die bei der Bearbeitung biologischer Probleme oft nicht zur Verfügung steht.

Um nun Mengen zwischen 1 und 10 mg z. B. eines fermentativ gespaltenen Hydrolysates präparativ auftrennen und die Fraktionen anschließend auch isolieren zu können, versuchte ich unter Beibehaltung der Papierchromatographie das Substanzgemisch strichförmig aufzutragen. Diese Methode erwies sich im Prinzip als sehr brauchbar, doch scheiterte die Isolierung der einzelnen Fraktionen an allzu großen Zacken, die sich durch das ungleichmäßige Auftragen mit der Hand nicht vermeiden ließen. Auch die Verwendung spezieller Auftragpipetten[1] lieferte kein befriedigendes Ergebnis. Selbst die Zuhilfenahme eines Lineals, an dem man die gefüllte Pipette vorbeizog, versagte, da die nicht einheitliche Bewegungsgeschwindigkeit der Hand ebenfalls ein ungleichmäßiges Auftragen verursacht.

Daher versuchte ich, die gelöste Substanz mechanisch mittels einer langsam über das Papier gleitenden Bürette aufzutragen, was auch gelang

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

und eine Isolierung durch Herausschneiden der einzelnen aufgetrennten Streifen ermöglichte. Eine geringe Zackenbildung läßt sich jedoch auch damit kaum vermeiden, da selbst das beste Papier geringe Unebenheiten aufweist, die sich durch Ungleichmäßigkeiten der Lösungsaufnahme bemerkbar machen.

Da sich diese Art des Auftragens bewährte, konstruierten wir ein einfaches Gerät* (Abb. 1), mit dem es möglich ist, eine größere Menge genau und gleichmäßig in Form eines Striches auf das Papier zu bringen. Im Prinzip handelt es sich hierbei um eine Mikrobürette, die

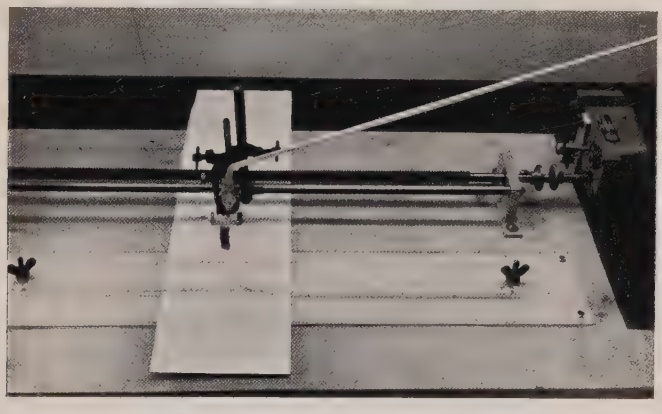


Abb. 1. Auftraggerät

mittels einer durch einen Elektromotor angetriebenen Leitspindel über den Papierstreifen gezogen wird. Als Antriebsquelle kann jeder einfache Motor eines Plattenspielers benutzt werden. Die Leitspindel ist kugelgelagert, 60 cm lang und hat eine Steigung von 3 mm. Diese Steigung hat sich als günstig erwiesen, da dadurch eine Laufgeschwindigkeit gegeben ist, wie sie ungefähr der Saugwirkung des normalen chromatographischen Papiers Schleicher & Schüll 2043 b entspricht. Die Länge von 60 cm wurde gewählt, um auch ganze Papierbogen verwenden zu können.

Als Auftragbürette benützte ich eine Mikrobürette von 2 ml Inhalt, wodurch eine genaue Ablesung der aufgetragenen Menge möglich ist. Zur genauen Regulierung der Ausflußgeschwindigkeit sind zwei Möglichkeiten gegeben. Erstens ist die Geschwindigkeit des Motors in geringen Grenzen variabel und zweitens sind an der Bürette selbst zwei Hähne mit Feineinstellung angebracht. Während der eine Hahn lediglich zum An- oder Abstellen dient, ist der zweite Hahn zur exakten Einstellung der Ausflußgeschwindigkeit vorgesehen und für jedes Lösungsmittel einzustellen. Die

* Dem Institutsmechaniker *Karl Doppelhofer* danke ich für die sorgfältige Anfertigung des Gerätes.

Bürette endet in einer gebogenen Kapillare, die unten plan geschliffen ist, um ein Aufrauhen des Papiers zu vermeiden. Durch einen Docht, den man in die Kapillare einzieht, läßt sich die Geschwindigkeit des Ausflusses verringern. Da aber diese Ausflußgeschwindigkeit sehr stark vom hydrostatischen Druck der Flüssigkeitssäule in der Bürette abhängt, war es nötig, die Bürette direkt über dem oberen Hahn abzuwinkeln. Dabei erwies sich ein Winkel von 20 bis 30° zum Papier als sehr zweckmäßig.

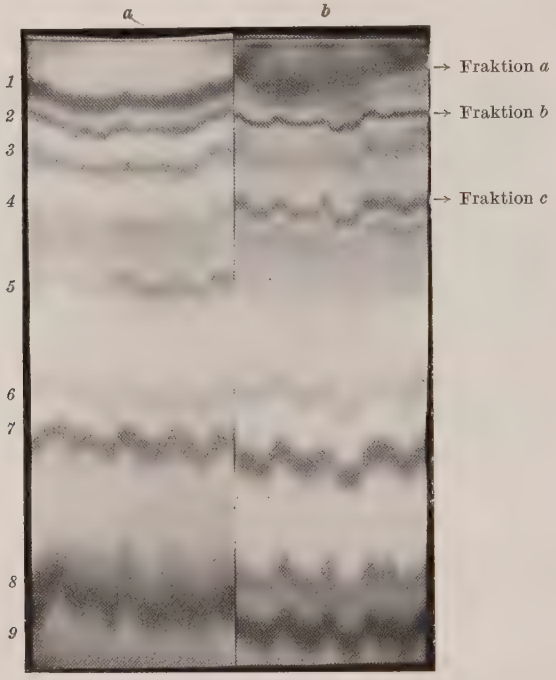


Abb. 2. *a* Leitchromatogramm eines Aminosäuregemisches. *b* Strichchromatogramm des partiellen Hydrolysates; Schleicher & Schüll 2043 b, Butanol : Eisessig : Wasser (16 : 1 : 23)
1 Lysin, *2* Glutaminsäure, *3* Threonin, *4* Alanin, *5* Prolin, *6* Tyrosin, *7* Valin, *8* Phenylalanin, *9* Isoleucin

Zum Auftragen spannt man einen Papierstreifen gewünschter Länge und Breite unter ein fest angebrachtes Lineal und läßt die Kapillare der Bürette darüberstreifen. Das Lineal dient dabei gleichzeitig als Führung. Will man größere Mengen Flüssigkeit auftragen, so empfiehlt es sich zur Vermeidung von Ungleichmäßigkeiten, dies nicht auf einmal in Form eines dicken Striches, sondern nach jeweiligem Trocknen in kleinen Portionen zu tun. Am Anfang und Ende des Papierstreifens ergeben sich beim Auftragen zwangsläufig größere Unregelmäßigkeiten, da der Übergang der langsam wandernden Bürette auf das Papier nicht gleichmäßig vor sich geht. Aus diesem Grunde ist es ratsam, einen 1 cm breiten Streifen auf jeder Seite des Papiers abzuschneiden.

Diese so präparierten Papierstreifen werden nun in eine Chromatographierkammer eingehängt und wie gewöhnlich nach Sättigung mit einem entsprechenden Lösungsmittel mit diesem entwickelt.

Als Beispiel einer solchen strichförmigen Auftragung sei die Trennung, Isolierung und Identifizierung von Aminosäuren und Peptiden in einem Proteinhydrolysat beschrieben.

Auf einen elektrophoretisch einheitlichen Eiweißkörper ließ ich eine hochwirksame bakterielle Protease einwirken. Dieses Ferment war durch Dialyse von jeglichen Spaltprodukten befreit, so daß es sich nicht merklich selbst verdaute. Das Hydrolysat wurde mit dem darin enthaltenen Ferment, wie oben beschrieben, strichförmig auf einen 13 cm breiten Papierstreifen (Schleicher & Schüll 2043 b) aufgetragen. Nach dessen Entwicklung in Form eines Durchlaufchromatogramms mit einem etwas modifizierten[2] Lösungsmittelgemisch nach *S. M. Partridge*[3] wurden die Aminosäuren und etwa noch vorhandene Peptide mit Ninhydrin angefärbt (Abb. 2 *b*). Ein gleichzeitig mitgelaufenes Vergleichschromatogramm (Abb. 2 *a*), auf dem ein Gemisch verschiedener bekannter Aminosäuren ebenfalls strichförmig aufgetragen wurde, dient zur Identifizierung der Aminosäuren im Hydrolysat. Je nach der Länge der Wanderungszeit ist es auch hier möglich, einzelne Substanzen mit ähnlichen R_f-Werten mehr oder weniger gut zu trennen. Der Nachweis einer Aminosäure ist auch dadurch möglich, daß man nach Zusatz der fraglichen Säure zum Hydrolysat eine Verstärkung des Streifens beobachtet.

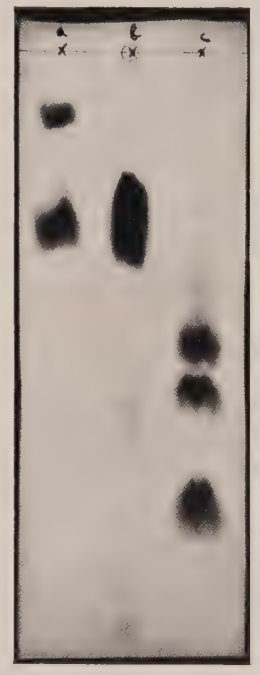


Abb. 3. Chromatogramm der hydrolytisch gespaltenen Fraktionen
a Lysin und Alanin, *b* Glutaminsäure, *c* Tyrosin, Valin und Leucin
Schleicher & Schüll 2043 b,
Butanol : Eisessig : Wasser (16 : 1 : 23)

Es soll hier nicht näher auf die Zusammensetzung dieses Proteins eingegangen, sondern gezeigt werden, daß es mit Hilfe dieser Methode möglich ist, die streifenförmig getrennten Bruchstücke oder Substanzgemische in größerer Menge zu gewinnen und näher zu charakterisieren. Die Methode gestattet also, z. B. die durch partielle Hydrolyse gewonnenen Peptide zu isolieren und einer neuerlichen Hydrolyse zu unterwerfen.

Die ersten drei Fraktionen mit den kleinsten R_f-Werten des auf Abb. 2 *b* wiedergegebenen Chromatogramms wurden ausgeschnitten, die jeweiligen

Substanzen mit 5,5-n Salzsäure herausgelöst und schließlich in dieser Lösung hydrolysiert. Nach der Hydrolyse wurde die Salzsäure im Vakuum entfernt, das Hydrolysat in 10%igem Isopropanol aufgenommen und in üblicher Weise punktförmig aufgetragen. Die Auftrennung der Aminosäuren erfolgte durch ein Butanol-Eisessig-Wasser-Gemisch[2], die Anfärbung durch Ninhydrin. Wie aus Abb. 3 ersichtlich ist, handelte es sich bei der Fraktion *a* um ein Dipeptid, das bei vollständiger Hydrolyse zwei Aminosäuren lieferte, die als Lysin und Alanin identifiziert werden konnten. Der kräftige Streifen des strichförmigen Chromatogramms (Abb. 2 *b*) erwies sich als einheitliche Substanz, und zwar als Glutaminsäure mit nur geringen Verunreinigungen, die in diesem Protein tatsächlich in großer Menge enthalten ist. Die dritte Fraktion *c* ließ sich in drei Aminosäuren aufspalten, war also ein Tripeptid, bestehend aus den Aminosäuren Tyrosin, Valin und Leucin.

Auf diese Weise kann jeder einzelne Streifen eines strichförmigen Chromatogramms auf seine Einheitlichkeit untersucht und so jedes Spaltprodukt analysiert werden. Auch die Angriffsstelle der Protease wird dadurch ersichtlich.

Die weiter gewanderten Streifen auf dem Strichchromatogramm (Abb. 2), die Aminosäuren mit größeren R_f-Werten enthalten, können ohne vorherige Isolierung direkt aus den R_f-Werten oder durch mitgelaufene Testsubstanzen identifiziert werden.

Eine weitere Möglichkeit des Strichchromatogrammes ist in einer weitaus genaueren quantitativen Bestimmung der aufgetrennten Aminosäuren gegeben, als es das punktförmige Auftragen erlaubt, da man bei einer strichförmigen Auftragung verschiedene Stellen der Streifen direkt kolorimetrieren und das Resultat aus einem Mittelwert entnehmen kann. So lassen sich die sonst üblichen Fehlerquellen bei der direkten kolorimetrischen Analyse auf dem Papier weitgehend vermeiden.

Zusammenfassung

Es wird ein einfaches Gerät für gleichmäßiges, strichförmiges Auftragen von Flüssigkeiten beschrieben, die papierchromatographisch getrennt werden sollen. Die nach Elution der streifenförmig getrennten Fraktionen gewonnenen Substanzmengen sind bei dieser Methode für eine genaue Identifizierung ausreichend.

Summary

A simple device is described for the uniform application of streaks of liquids which are to be separated by paper chromatography. The amounts of materials obtained after the elution of the streaked separated fractions suffice for an exact identification.

Résumé

Description d'un appareil simple permettant de déposer, de façon régulière et sous forme de traits, des liquides devant être soumis à une séparation chromatographique sur papier. Les quantités de substance que l'on peut obtenir par élution des fractions séparées sous forme de bandes sont suffisantes pour permettre une identification précise à l'aide de cette méthode.

Literatur

[1] *K. Holzer,* Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1434.
[2] *A. Holasek, H. Lieb* und *W. Merz,* Mh. Chem. **86**, 1010 (1955).
[3] *S. M. Partridge,* Biochem. J. **42**, 238 (1948).

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut und Pregl-Laboratorium der Universität Graz

Zur papierchromatographischen Bestimmung von Hydroxystearinsäuren*

Von

K. Winsauer

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 28. Februar 1957)

Zur Identifizierung der Öl-, Linol- und Linolensäuren in einem Gemisch mit anderen Fettsäuren wurde nach einem Verfahren gesucht, um auch kleinste Mengen ohne Störung durch andere natürliche Fettsäuren zu erkennen.

Eine von *H. P. Kaufmann* und *W. H. Nitsch*[1] entwickelte Methode eignet sich zur Trennung ungesättigter Fettsäuren. Bei Anwesenheit gesättigter Säuren ist es aber nicht möglich, z. B. Palmitin- von Ölsäure, Myristin- von Linolsäure und Linolen- von Laurinsäure zu unterscheiden. *J. Fries, A. Holasek* und *H. Lieb*[2] berichteten über einen spezifischen Nachweis der ungesättigten Fettsäuren am Papier mittels Ozonisierung. Wenn aber gleichzeitig gesättigte Fettsäuren vorhanden sind, entziehen sich diese teilweise dem einwandfreien Nachweis.

Es schien aussichtsreich, eine Trennung der ungesättigten von den gesättigten Fettsäuren durch Jodierung, Bromierung oder Hydroxylierung der Doppelbindungen zu erreichen. Wie aus der Literatur bekannt ist, zeigen die verschiedenen hydroxylierten Fettsäuren der C_{18}-Reihe Löslichkeitsunterschiede, die eine papierchromatographische Auftrennung möglich erscheinen ließen[3]. Es wurden daher aus Öl-, Linol- und Linolensäure die entsprechenden Di-, Tetra- und Hexahydroxy-Stearinsäuren als Testsubstanzen hergestellt. Dazu wurde die Oxydation nach *K. Hazura*[4] verwendet. Bei vorsichtiger Oxydation mit alkalischer Permanganatlösung liefern die ungesättigten Fettsäuren die entsprechenden Dihydroxyfettsäuren.

---

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

Bevor Trennversuche angestellt wurden, mußte eine Methode zur Erkennung der hydroxylierten Säuren am Papier gefunden werden. Hiefür kamen in Frage: 1. Bildung der Borsäurekomplexe, die dann mit geeigneten p_H-Indikatoren nachgewiesen werden können. 2. Oxydation der benachbarten Hydroxylgruppen mit Kaliumperjodat.

Zu 1. Mit einer 1%igen Lösung von Bromkresolpurpur in einem Boratpuffer, wie ihn *A. E. Badfield* und *A. E. Flood*[5] zum Nachweis von Polyalkoholen am Papier verwenden, können auch die Hydroxyfettsäuren sichtbar gemacht werden. Sie erscheinen als gelbe Flecke auf blauem Grund. Dihydroxy-stearinsäure ist dabei nur sehr schwach sichtbar.

Zu 2. Eine spezifische Reaktion auf benachbarte Hydroxylgruppen ist die Oxydation mit Kaliumperjodat[6]. *L. Metzenberg* und *H. K. Mitchell*[7] modifizierten die von *I. G. Buchanan, L. A. Decker* und *A. G. Long*[8] angewandte Reaktion zur Erkennung von Glykolen und Nucleosiden am Papier und gaben dazu folgendes Reagens an:

Lösung a: 0,01-m Kaliumperjodat.

Lösung b: 35%ige gesättigte Natriumtetraboratlösung, in der 0,8% Kaliumjodid, 0,9% Borsäure und 3% lösliche Stärke enthalten sind.

Das bei 80° C gut getrocknete Papier wird ganz leicht mit Lösung a besprüht und 10 Minuten bei Zimmertemperatur an der Luft belassen. Dann wird Lösung b aufgesprüht. Nach zirka 10 Minuten ist der beste Kontrast erreicht und die Flecke erscheinen weiß auf blauem Hintergrund. Die Färbung beruht darauf, daß Perjodat die nachzuweisende Substanz oxydiert und dabei selbst reduziert wird, so daß es nicht mehr zur Reaktion mit Kaliumjodid unter Freisetzung von Jod zur Verfügung steht. Überall dort, wo Perjodat nicht reduziert wurde, kommt es daher zur Jod-Stärke-Reaktion.

Es können 20 μg der jeweiligen Hydroxysäure am Papier nachgewiesen werden. Da mit dem Perjodatreagens eine brauchbare Nachweisreaktion zur Erkennung der Fettsäuren am Papier zur Verfügung stand, wurden nun Versuche zur Trennung von Di-, Tetra- und Hexahydroxy-stearinsäure angestellt. Mit verhältnismäßig wenig Versuchen gelang es, ein Entwicklungsgemisch zu finden, das eine hinreichende Trennung versprach. Es mußten nur Butanol-Äthanol-Ammoniak-Wasser-Gemische mengenmäßig variiert werden. Zur Trennung der drei Hydroxy-stearinsäuren voneinander bewährte sich folgendes Entwicklungsgemisch:

75 Teile Butanol, reinst,
15 Teile Äthanol, absolut,
8 Teile Wasser,
2 Teile Ammoniak, konz. ($d = 0{,}91$).

R_f-Werte: Dihydroxy-stearinsäure 0,65
Tetrahydroxy-stearinsäure 0,52
Hexahydroxy-stearinsäure 0,24

Es soll hier noch bemerkt werden, daß auch Monohydroxy-stearinsäure und Trihydroxy-stearinsäure aus Ricinolsäure dargestellt wurden. Es zeigte sich aber, daß die Monohydroxy-stearinsäure den gleichen R_f-Wert wie die Dihydroxy-stearinsäure hat und daß sich Trihydroxy-stearinsäure nicht genügend von der Tetrahydroxy-stearinsäure abtrennen läßt. Diese beiden Säuren lassen sich daher im Gemisch mit den anderen nicht nachweisen.

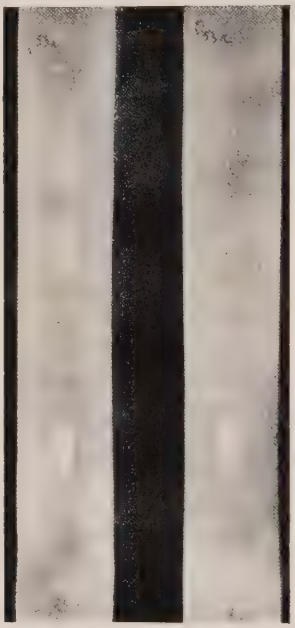


Abb. 1. Chromatogramme einer Hexahydroxy-stearinsäure und eines Gemisches von Di-, Tetra- und Hexahydroxy-stearinsäure. Papier S & S 2043 b, absteigende Methode. 75 Teile Butanol reinst, 15 Teile Äthanol abs., 8 Teile Wasser, 2 Teile Ammoniak konz. (d = 0,91)

Nachdem es gelungen war, die Trennung der Di-, Tetra- und Hexahydroxy-stearinsäure papierchromatographisch durchzuführen, sollte die Anwendbarkeit dieser Methode in Verbindung mit einer früher ausgearbeiteten Trennung[9] für gesättigte Fettsäuren überprüft werden. Zu diesem Zwecke mußte nach einer geeigneten Oxydationsmethode gesucht werden, um ein Gemisch gesättigter und ungesättigter Fettsäuren (wenn nur wenige Milligramm zur Verfügung stehen) so zu verarbeiten, daß mit Sicherheit neben allen gesättigten auch die einfach ungesättigten Fettsäuren sowie die mehrfach ungesättigten Säuren der C_{18}-Reihe, falls sie vorhanden sind, erkannt werden können. Zur Bedingung mußte gestellt werden, daß die Oxydation möglichst quantitativ verläuft und die dabei entstehenden Reaktionsprodukte leicht entfernt werden können oder wenigstens die anschließende Chromatographie nicht stören.

J. English jun. und *I. Delafield-Gregory*[10] teilten eine Methode mit, bei der Perameisensäure zur Oxydation verwendet wird. Es hat sich jedoch erwiesen, daß mit dieser Art der Oxydation ein Teil der vorhandenen Doppelbindungen gesprengt wird. Die unter anderem auch entstandenen Dicarbonsäuren konnten papierchromatographisch mit der Methode von *Kalbe*[11] nachgewiesen werden. Da aber die Reaktionsprodukte die Trennung der Hydroxy-stearinsäuren störten, wurde die Oxydation mit Persäuren nicht weiter untersucht. Die Hydroxylierung der Doppelbindungen nach *K. Hazura* versprach bessere Ergebnisse. Es mußte nur eine geeignete Arbeitsweise gefunden werden, um die Fettsäuren und die entstandenen Hydroxy-stearinsäuren nach der Oxydation ohne größeren Substanzverlust von den anorganischen Lösungspartnern abzutrennen.

Für die Oxydation ungesättigter Fettsäuren im Mikromaßstab hat sich die nachfolgend beschriebene Arbeitsvorschrift bewährt:

10 bis 20 mg des zu untersuchenden Fettsäuregemisches werden in 2 ml 0,5%iger Kalilauge gelöst, auf 0° C abgekühlt und unter Rühren tropfenweise mit 2 ml einer 1,5%igen Kaliumpermanganatlösung versetzt. Die Temperatur soll während der Oxydation auf 0° C gehalten werden. Nach 10 Minuten wird zur Entfernung des Braunsteins schwefelige Säure vorsichtig unter Rühren bis zur Entfärbung der Lösung zugetropft. Zur Neutralisierung der geringen Menge überschüssiger schwefeliger Säure und der entstandenen Schwefelsäure wird ein Gemisch von Natriumhydrogencarbonat mit Bariumcarbonat (1 : 1) so lange eingetragen, bis die Kohlendioxyd-Entwicklung aufgehört hat. Nun wird auf dem Wasserbad zur Trockne eingedunstet. Der voluminöse weiße Rückstand wird in einem Mikro-Extraktor nach *Gorbach* 2 Stunden mit 5 ml abs. Äthanol extrahiert. Dabei gehen sämtliche hydroxylierten und gesättigten Fettsäuren in Lösung und können nun direkt zur chromatographischen Analyse auf das Papier aufgetragen werden.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode zur papierchromatographischen Trennung von Hydroxy-stearinsäuren sowie ihre Sichtbarmachung am Papier beschrieben. Eine Arbeitsweise wird angegeben, um durch Überführung von Öl-, Linol- und Linolensäure in die entsprechenden Hydroxy-stearinsäuren einen Nachweis gesättigter Fettsäuren neben den ungesättigten zu ermöglichen.

Summary

A method is described for the paper chromatographic separation of hydroxy-stearic acid and for making it visible on paper. A procedure is given for detecting saturated fatty acids in the presence of the unsaturated acids by conversion of oleic-, linoleic-, and linolenic acids into the corresponding hydroxy-stearic acids.

Résumé

Description d'une méthode de séparation chromatographique sur papier et de révélation des acides hydroxystéariques. Mode opératoire permettant l'identification des acides gras saturés en présence des non saturés par transformation des acides oléïque, linoléïque et linolenique en acides hydroxystéariques correspondants.

Literatur

[1] *H. P. Kaufmann* und *W. H. Nitsch*, Fette und Seifen **56**, 154 (1954); **58**, 234 (1956).

[2] *J. Fries*, *A. Holasek* und *H. Lieb*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1722.

[3] *K. Winsauer*, Dissertation, Universität Graz, Juli 1956.
[4] *K. Hazura*, Mh. Chem. **8**, 463, 472 (1878).
[5] *A. E. Badfield* und *A. E. Flood*, Nature **166**, 264 (1950).
[6] *E. L. Jackson*, Organic Reactions, Vol. II, 341 (1944).
[7] *L. Metzenberg* und *H. K. Mitchell*, J. Amer. Chem. Soc. **76**, 4187 (1954).
[8] *I. G. Buchanan*, *L. A. Decker* und *A. G. Long*, J. Chem. Soc. London **1950**, 3162.
[9] *A. Holasek* und *K. Winsauer*, Mh. Chem. **85**, 796 (1954).
[10] *J. English* jr., und *I. Delafield-Gregory*, J. Amer. Chem. Soc. **69**, 2120 (1947).
[11] *H. Kalbe*, Z. physiol. Chem. **297**, 19 (1954).

Aus dem II. Chemischen Institut der Universität Wien

Schnellbestimmung von Mikrogrammengen Uran in Mineralen*

Von

J. Korkisch, M. R. Zaky und **F. Hecht**

Mit 2 Abbildungen

(Eingegangen am 8. März 1957)

I. Einleitung

Wie bereits früher[1] mitgeteilt wurde, waren in unserem Laboratorium Versuche mit dem Ziel im Gange, das in Mineralen enthaltene Uran nach Entfernung der Kieselsäure mittels einer einzigen Säulenoperation von allen die polarographische Endbestimmung des Urans störenden Fremdionen abzutrennen. Dieses Ziel konnte nunmehr nach vielen mehr oder weniger erfolgreichen Versuchen erreicht werden, bei denen eine große Anzahl organischer und anorganischer Komplexbildner[2] für Uran, wie z. B. Monochloressigsäure, Phenylessigsäure, Salzsäure usw., untersucht worden waren. Das größte Hindernis bei diesen Versuchen stellte die Phosphorsäure dar, die bei Anwesenheit von Kationen, wie z. B. Eisen(III) oder Aluminium, in schwach saurer Lösung zur Bildung von in diesem Medium unlöslichen Phosphaten Anlaß gab und dadurch eine Säulenoperation unmöglich machte. Aus diesem Grunde wurde nach einem Komplexbildner für Uran gesucht, der zum Unterschied von obigen Komplexbildnern selbst in mineralsaurer Lösung eine quantitative Adsorption des Urans am Austauscher bei gleichzeitiger Trennung von allen in den fraglichen Mineralen in größeren Mengen vorkommenden Elementen ermöglicht. Als dazu am besten geeigneter Komplexbildner für Uran konnte schließlich das Nitration ermittelt werden.

Uran läßt sich in Form des negativ geladenen Uranylnitratkomplexes aus einer schwach salpetersauren und große Mengen von Ammoniumnitrat enthaltenden Lösung vom stark basischen Anionenaustauscher Amberlite

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* in aufrichtiger Verehrung zum 70. Geburtstag gewidmet.

I.R.A.-400 (NO_3^-) zum Unterschied von allen anderen untersuchten Elementen quantitativ festhalten, wodurch eine Trennung von diesen Ionen, unter denen sich auch Phosphorsäure befindet, erzielt werden kann. Durch die anschließende Behandlung des Austauschers mit einer gesättigten Ammoniumnitratlösung werden die noch auf der Säule verbliebenen Fremdionen weitgehend entfernt. Hierauf wird das Uran mit verdünnter Salpetersäure (1 + 9) eluiert, wonach sich im Eluat neben Uran nur etwas Ammoniumnitrat befindet. Nach dem Eindampfen des Eluats wird das Ammoniumnitrat thermisch zersetzt und die polarographische Endbestimmung des Urans unter Verwendung der katalytischen Nitratwelle[3] durchgeführt.

Dieses Verfahren stellt eine wesentliche Vereinfachung der von uns bis jetzt verwendeten Methode zur Bestimmung von Mikrogrammengen Uran in Mineralen dar, nach der das Uran mit Äther[4] aus einer salpetersauren Lösung, die große Mengen von Ammoniumnitrat sowie Calcium- und Eisen(III)-nitrat (zur komplexen Bindung von Fluorid- und Phosphationen) enthielt, extrahiert[5] wurde. Anschließend wurde eine Säulenoperation unter Verwendung von Amberlite I.R.A.-400 (Ac^-) durchgeführt, wodurch das Uran von allen bei der vorangehenden Ätherextraktion mit extrahierten Elementen getrennt und der polarographischen Endbestimmung zugänglich gemacht werden konnte[3]. Unsere neue Methode stellt, wie aus obigen Ausführungen hervorgeht, formal ein analoges Verfahren zur Extraktionsmethode des Urans mit Äther[4] dar, wobei an Stelle des Äthers der stark basische Anionenaustauscher Amberlite I.R.A.-400 (NO_3^-) tritt. Dadurch wird eine apparative Vereinfachung erzielt und, da eine weitere Trennungsoperation überflüssig ist, können jetzt auch Urananalysen bedeutend rascher und mit derselben Genauigkeit wie früher durchgeführt werden.

Es lassen sich weniger als 0,5 μg Uran bei Anwesenheit eines oder aller der folgenden Ionen (PO_4^{3-}, Fe^{3+}, Cu^{2+}, Al^{3+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Mg^{2+}, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Th^{4+}, Cr^{3+} und der seltenen Erden) bequem abtrennen. Das Gewichtsverhältnis des Urans zu obigen Elementen betrug 1 : 10 bis $1 : 2 \cdot 10^4$. Die obengenannten Kationen bilden zum Unterschied vom Uran unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen keine oder nur wenig stabile Nitratkomplexe, die vom Austauscher nicht festgehalten werden. Die Phosphationen werden durch Zugabe von Eisen(III)-ionen komplex gebunden, so daß sie die Anreicherung des Urans nicht zu stören vermögen.

Aus schwefelsaurer Lösung wird Uran gegenwärtig schon mit Hilfe von Amberlite I.R.A.-400 angereichert[6]. Hinweise auf Urananreicherung mit Dowex-Kationen- und Anionenaustauschern finden sich an anderer Stelle[7], doch entsprechen die dort angegebenen Bedingungen nicht den von uns angewandten.

II. Lösungen und Reagenzien

Amberlite I.R.A.-400: Das wie üblich gereinigte Harz[8] wird einige Tage unter 0,1-n Salpetersäure aufbewahrt und dann auf eine Korngröße von 0,1 bis 0,3 mm zerkleinert. Die in Abb. 1 (S. 488) gezeigte Austauschersäule* wird gefüllt und mehrmals mit destilliertem Wasser gewaschen, um alle Säure zu entfernen.

Uranstandardlösung: Uranylnitrat p. a. wurde in konzentrierter Salpetersäure gelöst und die Lösung auf ein bestimmtes Volumen verdünnt. Die Konzentration des Urans wurde dann gravimetrisch mit 8-Hydroxychinolin ermittelt[9]. 1 ml der Lösung enthielt 2,170 mg Uran. 10 ml dieser Lösung wurden mit dest. Wasser auf 100 ml verdünnt: 1 ml ≡ 217 μg Uran. 3 ml dieser Lösung wurden zur Trockne eingedampft und der Rückstand mit 250 ml 0,01-n Salpetersäure aufgenommen: 1 ml ≡ 2,6 μg Uran.

Ammoniumnitratlösung: Es wurde eine gesättigte Ammoniumnitratlösung hergestellt, indem festes Ammoniumnitrat im Verhältnis 2 : 1 in dest. Wasser gelöst wurde.

Salpetersäure: Es wurden eine im Verhältnis 1 : 10 verdünnte und eine 1-n Salpetersäure hergestellt und ihre Normalität volumetrisch bestimmt.

Lösungen verschiedener Ionen: Eine Reihe von Lösungen folgenden Gehaltes wurde bereitet; in jedem Fall wurden gewogene Mengen der einzelnen Elemente in dest. Wasser gelöst:

Eisen(III)-nitrat	1 ml ≡ 15 mg Fe
Kupfersulfat	1 ml ≡ 20 mg Cu
Bleinitrat	1 ml ≡ 6 mg Pb
Aluminiumchlorid	1 ml ≡ 18 mg Al
Zinksulfat	1 ml ≡ 15 mg Zn
Kobaltnitrat	1 ml ≡ 20 mg Co
Nickelsulfat	1 ml ≡ 12 mg Ni
Magnesiumchlorid	1 ml ≡ 10 mg Mg
Calciumnitrat	1 ml ≡ 5 mg Ca
Chromsulfat	1 ml ≡ 10 mg Cr
Thoriumnitrat	1 ml ≡ 2,7 mg Th
Phosphorsäurelösung	1 ml ≡ 4 mg PO_4^{3-}

Zusammen mit diesen Lösungen wurde ein Oxydgemisch seltener Erden folgender Zusammensetzung (in Gewichtsprozenten bezogen auf die reinen Salze) verwendet**.

La	Ce	Pr	Nd	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Cp
1	1	10	55	20	2	8	0,2	1	0,2	0,5	0,1	0,5	0,05

* Die hier verwendete Apparatur unterscheidet sich von einer früher beschriebenen[3] durch die geänderte Dimensionierung.

** Dieses Gemisch wurde uns dankenswerterweise von Herrn Prof. Dr. *A. Brukl* überlassen.

III. Apparaturen

Die Austauschersäule

Die verwendete Säule wird in Abb. 1 gezeigt. Der Teil *A*, in dem sich das Harz befindet, ist 20 cm lang und besitzt einen Durchmesser von 0,7 cm. Das Harz befindet sich zwischen zwei Glaswollepfropfen. Die Länge des Harzbettes beträgt 15 cm. Das Niveaugefäß *B* besitzt eine Kapazität von ungefähr 75 ml. Das Kapillarrohr *C* weist einen Durchmesser von 0,15 cm auf. Beim Füllen der Säule muß darauf geachtet werden, daß keine Luft in das Harzbett oder in die Kapillare gelangt[8].

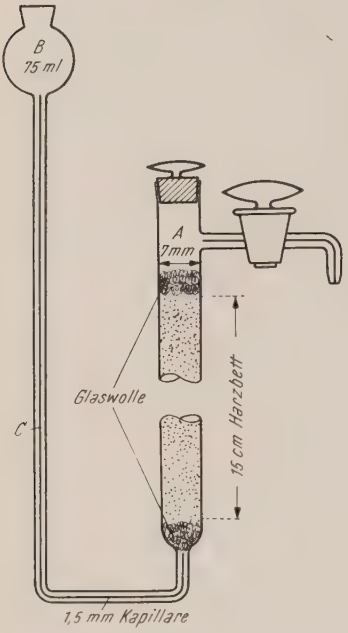


Abb. 1

Die Säule wird folgendermaßen gefüllt: Sie wird bei geschlossenem Hahn und nach Entfernung des Schliffstopfens von Teil *A* mit dest. Wasser gefüllt. Ein kleines Stück Glaswolle wird mit dest. Wasser befeuchtet und mittels eines Glasstabes fest an den Boden der Säule gepreßt. Die schon gereinigte, wäßrige Suspension des zerkleinerten Harzes wird durch einen kleinen Trichter, der in den Teil *A* hineinragt, allmählich eingefüllt. Es wird so lange Harzsuspension eingefüllt, bis das Harzbett eine Länge von 15 cm erreicht hat. Der zweite benetzte Glaswollpfropfen wird dann vorsichtig auf die Harzsäule aufgebracht, wobei darauf zu achten ist, daß keine Luftblasen in die Säule gelangen. Dann wird Teil *A* mit einem Glasstopfen verschlossen.

Der Polarograph

Die Messungen erfolgten mit einem Sargent-Polarographen, Modell XXI. Dabei dienten die tropfende Quecksilberelektrode als Kathode und eine Silber-Silberchloridelektrode als Anode[3].

IV. Resultate und Diskussion

Wie aus Tabelle 2 (S. 490) hervorgeht, wurden viele Versuche ausgeführt, um das Uran bei Anwesenheit eines oder mehrerer Ionen zu bestimmen. Der maximale Fehler der Uranbestimmung betrug nie mehr als $\pm$ 3%, was als ein unvermeidlicher experimenteller Fehler betrachtet

werden kann. Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß die Uranbestimmung nach dieser Methode von keinem der verwendeten Ionen beeinflußt wird.

Zur systematischen Diskussion des Problems soll dieses nach folgenden drei Gesichtspunkten behandelt werden:

a) Vorbehandlung des Harzbettes;
b) Lösung des Komplexbildners und ihr p_H-Wert;
c) Einfluß der Temperatur auf den Eluatrückstand.

a) *Vorbehandlung des Harzbettes*

Um das Harz in die Nitratform zu bringen, läßt man durch das Harzbett eine stark nitrathältige Lösung fließen. Dies wurde zuerst mit einer 1-n Salpetersäurelösung versucht. Die so erhaltenen Resultate waren nicht zufriedenstellend. Dies beruhte wahrscheinlich darauf, daß die hohe Acidität den Uranylnitratkomplex bei der nachfolgenden Sorption mehr oder weniger stark zerstörte. Es wurde auch eine gesättigte Ammoniumnitratlösung versucht. Infolge ihres höheren p_H-Wertes im Vergleich zu dem der 1-n Salpetersäure wurden gute Ergebnisse erhalten. Dies kann wohl als Beweis dafür gelten, daß hohe Acidität den Uranylnitratkomplex zerstört.

b) *Die Lösung des Komplexbildners und ihr p_H-Wert*

Zu 70 ml einer Lösung I, bestehend aus 50% gesättigter Ammoniumnitratlösung und 50% Eisessig, die 10%ig an Salpetersäure war, wurden 40 ml dest. Wasser und 1 ml der Uranstandardlösung, das ist 2,6 μg Uran, zugegeben. Bei der Sorption dieser Lösung bildeten sich zwischen den Harzteilchen Luftblasen; außerdem wurde infolge ihrer sehr hohen Acidität kein Uranylnitratkomplex gebildet, bzw. der gebildete Komplex sofort wieder zersetzt. Hierauf wurden Versuche unternommen, um die Acidität der Lösung des Komplexbildners zu erniedrigen. Es wurde dazu eine neue Lösung II benutzt, bei der zum Unterschied von Lösung I eine halbgesättigte Ammoniumnitratlösung verwendet und auf die Zugabe von Salpetersäure verzichtet wurde. Obgleich die Acidität dieser Lösung wesentlich geringer als die der obigen war, wurde das Uran nicht quantitativ vom Harz adsorbiert. Deshalb wurde eine dritte Lösung III, bestehend aus 60 ml einer mit 5 ml 1-n Salpetersäure angesäuerten gesättigten Ammoniumnitratlösung, die mit 10 ml dest. Wasser verdünnt worden war, untersucht. Diese Lösung wies einen p_H-Wert von 1,5 bis 2 auf. Da sie somit einen höheren p_H-Wert als die beiden obenerwähnten zeigte, wurde aus ihr, wie aus Tab. 1 hervorgeht, das Uran quantitativ vom Austauscher adsorbiert.

Aus der vorangehenden Diskussion kann geschlossen werden, daß hohe Acidität der Lösung des Komplexbildners ($p_H < 1{,}5$) die Stabilität des Uranylnitratkomplexes stark beeinflußt. Das heißt, je größer die

Acidität der Lösung ist, um so geringer ist seine Stabilität. Es ist auch günstig, keine hohe Essigsäurekonzentration zusammen mit Ammoniumnitratlösung anzuwenden, da sich sonst zwischen den Harzteilchen Luftblasen bilden können, die die Fließgeschwindigkeit sowie die vollständige Adsorption des Urans wesentlich beeinflussen.

In Tabelle 1 werden die mit den drei obenerwähnten Lösungsgemischen des Komplexbildners bei ein und derselben Fließgeschwindigkeit erzielten Ergebnisse dargestellt.

Tabelle 1

Komplexlösungen	Menge an verwendetem Uran in μg	Fehler in %
I	2,6	— 83
II	2,6	— 28
III	2,6	— 2

Die Phosphationen, die gewöhnlich die Anreicherung des Urans mittels einer Säulenoperation unmöglich machen und durch ihre Anwesenheit den Verlauf der Analyse äußerst ungünstig beeinflussen, werden durch einen Überschuß an Eisen(III)-Ionen maskiert. Da die Acidität der verwendeten Lösung des Komplexbildners sehr günstig für die Stabilität des Eisenphosphatkomplexes ist, kann dieses Verfahren als eine gute Methode zur komplexen Bindung des Urans als Anionenkomplex angesehen werden. Der Urankomplex wird leicht vom stark basischen Anionenaustauscher Amberlite I.R.A.-400 (NO_3^-) festgehalten, was hingegen für die Phosphationen bei Anwesenheit eines Überschusses von Eisen(III)-Ionen nicht zutrifft. Die anderen verwendeten Kationen sowie auch die Elemente der seltenen Erden stören dieses Verfahren nicht, da sie keinen derartigen Anionenkomplex wie das Uran bilden. In Tabelle 2 wird dies deutlich gezeigt.

Tabelle 2

Fremdion	Verwendete Uranmenge in μg	Menge des Fremdions in mg	Gewichtsverhältnis Uran: Fremdionen	Fehler in %
PO_4^{3-}	2,6	8	$1 : 3{,}1 \cdot 10^3$	— 3
Fe^{3+}		30	$1 : 1{,}1 \cdot 10^4$	
Cu^{2+}	2,6	20	$1 : 7{,}7 \cdot 10^3$	— 2
Pb^{2+}		6	$1 : 2{,}3 \cdot 10^3$	
Al^{3+}	2,6	18	$1 : 6{,}9 \cdot 10^3$	+ 2,5
Zn^{2+}		15	$1 : 5{,}8 \cdot 10^3$	
Co^{2+}	2,6	20	$1 : 7{,}7 \cdot 10^3$	— 3
Ni^{2+}		12	$1 : 4{,}5 \cdot 10^3$	
Mg^{2+}	2,6	10	$1 : 3{,}8 \cdot 10^3$	— 2,5
Ca^{2+}		5	$1 : 1{,}9 \cdot 10^3$	
Cr^{3+}	2,6	30	$1 : 1{,}9 \cdot 10^4$	— 2,5
Th^{4+}	2,6	2,7	$1 : 1{,}0 \cdot 10^3$	+ 2,5
Mischung der seltenen Erden	2,6	0,10	$1 : 3{,}8 \cdot 10^1$	— 3

c) *Einfluß der Temperatur auf den Eluatrückstand*

Das uranhältige Eluat, das auch etwas Ammoniumnitrat enthält (die letzten Spuren der Waschlösung), wird in einer Quarzschale auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird vorsichtig auf einer Heizplatte erhitzt, bis alles Ammoniumnitrat zerstört ist. Hierauf wird die Quarzschale mit voller Bunsenbrennerflamme erhitzt. Die Hitzebehandlung des Rückstandes hat großen Einfluß auf die Resultate. Zu hohe Resultate werden erhalten, wenn der Rückstand nicht genügend stark erhitzt wird. Die Ursache dafür beruht wahrscheinlich darauf, daß die letzten Spuren Ammoniumnitrat die Stufenhöhe der katalytischen Nitratwelle des Urans beeinflussen. Demzufolge muß man sicher sein, daß das Uran nicht mit Ammoniumnitrat verunreinigt ist. Dies wird erreicht, indem der Rückstand 10 Minuten lang bei voller Bunsenbrennerhitze erhitzt wird, bevor man die polarographische Messung ausführt. Es ist mitunter ratsam, den Glührückstand in 10 ml konz. Salzsäure aufzunehmen, die Lösung auf dem Wasserbad einzudampfen und dann erst die polarographische Messung vorzunehmen, wobei die Chloridspuren diese Bestimmung nicht stören.

Dies sind die wesentlichen Faktoren, von denen die vorliegende Arbeit abhängt und die die Bestimmung von Mikrogrammengen Uran beeinflussen.

V. Arbeitsvorschrift

a) *Die Eichkurve*

1 ml der Uranstandardlösung, die 2,6 μg Uran enthielt, wurde in eine Quarzschale gebracht und die Lösung auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in 10 ml 0,01-n Salpetersäure aufgenommen und in die Polarographenzelle gegeben. Nach 10 bis 15 Minuten langem Durchperlen von gereinigtem Stickstoff zwecks Verdrängung des in der Probe gelösten Sauerstoffes wird das Polarogramm, bei — 0,5 Volt beginnend, mit 2,0 Volt Brückenspannung aufgenommen[3]. Die Höhe der erhaltenen Welle wird ausgemessen und als Standard verwendet.

b) *Analysenmethode*

1. Vorbehandlung des Harzbettes: Das mit dest. Wasser säurefrei gewaschene Harzbett wird mit 75 ml gesättigter Ammoniumnitratlösung bei einer Fließgeschwindigkeit von 0,25 ml/min in die Nitratform übergeführt.

2. Sorptionsvorgang: Die uranhaltige Probelösung, die nicht mehr als 500 μg Uran enthalten darf, wird zusammen mit 3 ml konz. Salpetersäure auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird mit 5 ml 1-n Salpetersäure versetzt und so lange auf dem Wasserbad erwärmt, bis er sich vollständig aufgelöst hat. Hierauf werden 60 ml gesättigte

Ammoniumnitratlösung zugegeben; anschließend wird mit 10 ml Wasser verdünnt. Die Lösung wird sodann gut umgerührt und mit einer Fließgeschwindigkeit von 0,25 ml/min durch die nach b 1 vorbehandelte Säule gegossen.

3. Waschen des Harzbettes: Die Säule wird mit 70 bis 90 ml 50%iger Ammoniumnitratlösung gewaschen.

4. Elution des Urans: Das Uran wird mit Salpetersäure (1 + 9) unmittelbar in einen 100-ml-Meßkolben eluiert. Erreicht die Eluatflüssigkeit die 100-ml-Marke, so ist, wie diesbezügliche Versuche ergaben, die Elution des Urans quantitativ beendet. Die Elutionsgeschwindigkeit soll dabei nicht größer als die Sorptionsgeschwindigkeit sein.

5. Quantitative Bestimmung des Urans: Ein aliquoter Teil oder das gesamte Eluat wird in eine Quarzschale gebracht und die Lösung auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Die Schale wird dann vorsichtig auf einer Heizplatte so lange erhitzt, bis alles Ammoniumnitrat zersetzt ist. Hierauf wird sie mit voller Bunsenbrennerflamme 10 Minuten lang erhitzt. Ein etwaiger Rückstand wird in 10 ml 5-n Salzsäure gelöst und die Lösung auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird dann in 10 ml 0,01-n Salpetersäure aufgenommen und die Messung unter denselben Bedingungen, unter denen die Eichkurve aufgenommen wurde, ausgeführt. Durch Vergleich der erhaltenen Kurve mit der Eichkurve kann man leicht die Menge des Urans im Eluat berechnen. Nach dieser Arbeitsvorschrift wurden die in Tab. 2 gebrachten Versuchsergebnisse erzielt.

VI. Analyse von Mineralen

Eine genau gewogene Menge des uranhaltigen Minerals (0,5 bis 1 g) wird in einem Platintiegel mit Flußsäure und konz. Salpetersäure aufgeschlossen. Der Aufschlußprozeß muß so lange wiederholt werden, bis die letzten Spuren Kieselsäure entfernt sind. Jedes Mal muß das Säuregemisch bis zur Trockne eingedampft werden. Hierauf wird der kieselsäurefreie Rückstand in ungefähr 10 ml konz. Salpetersäure gelöst und die Lösung erneut auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Dann wird der Rückstand in 15 ml warmer 1-n Salpetersäure aufgenommen, filtriert und der Filterrückstand mit einigen wenigen Milliliter 1-n Salpetersäure gewaschen. Wird in der Probe eine größere Menge an Phosphationen erwartet, so wird dem Filtrat ein Überschuß an Eisen(III)-ionen (Fe als Nitrat) zugesetzt. Hierauf wird das Filtrat auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft. Der trockene Rückstand wird dann unter Erwärmen in 5 ml 1-n Salpetersäure gelöst. Nach Zugabe von 60 ml gesättigter Ammoniumnitratlösung und 10 ml Wasser wird die Lösung durch die wie oben beschrieben vorbehandelte Säule gegossen usw.

Auf diese Art und Weise wurden 3 Minerale untersucht. Die erhaltenen Resultate werden in Tab. 3 den mit anderen Methoden[3, 4]

erzielten Ergebnissen gegenübergestellt. Es sei hier darauf hingewiesen, daß die Säule nach Durchführung von 2 bis 3 Analysen erneut mit frischem Harz gefüllt werden muß.

Tabelle 3

Material	Resultate in µg Uran/g	Resultate nach anderen Methoden[3,4] µg Uran/g	Differenz in %
Kohlenasche	29,1	30	3
Phosphat	30	29	3
Superphosphat	19,5	19,8	1

VII. Ermittlung der Durchbruchkapazität der Ionenaustauschersäule (vgl. Abb. 1)

Nach obiger Arbeitsvorschrift wurden Versuche durchgeführt, wobei Urankonzentrationen von 100 bis 2600 µg in 75 ml Sorptionslösung angewendet wurden. Die Fließgeschwindigkeit betrug jeweils 0,25 ml/min. Die Resultate dieser Experimente sind in Abb. 2 wiedergegeben.

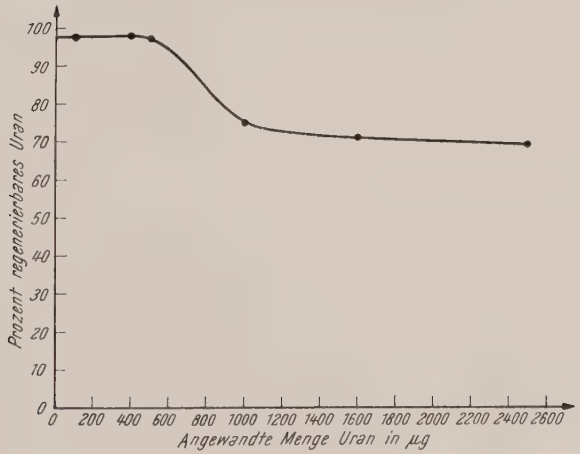


Abb. 2

Aus Abb. 2 geht klar hervor, daß bis zu 500 µg Uran praktisch quantitativ vom Austauscher festgehalten werden. Auf Grund dieser hohen Durchbruchkapazität können sowohl sehr geringe wie auch relativ große Uranmengen angereichert werden, ohne daß dazu große Harzmengen, wie es bei der Verwendung organischer Komplexbildner der Fall ist, notwendig sind.

Zusammenfassung

Die beschriebene neue Anreicherungsmethode des Uran(VI) ist der bekannten Ätherextraktion[4] analog. Das Uranylion bildet in einer salpetersauren und mit Ammoniumnitrat fast gesättigten Lösung einen negativ geladenen Uranylnitratokomplex, der quantitativ vom stark basischen Anionenaustauscher Amberlite I.R.A.-400 (NO_3^-) festgehalten wird. Alle Ionen, die die Säulenoperation stören könnten, darunter auch Phosphation, werden dagegen unter den gewählten Versuchsbedingungen abgetrennt. Nach dem Waschen der Säule mit halbgesättigter Ammoniumnitratlösung wird das Uran mit Salpetersäure (1 + 9) eluiert. Im Eluat wird dann Uran auf polarographischem Wege unter Verwendung der katalytischen Nitratwelle[3] quantitativ bestimmt. Bei diesem Verfahren werden ebenso gute Ergebnisse wie nach anderen bisher üblichen Methoden erzielt.

Summary

The method described here for collecting uranium (VI) is analogous to the familiar ether extraction[4]. In a nitric acid solution, saturated with ammonium nitrate, the uranyl ion forms a negatively charged uranyl nitrate complex, which is retained quantitatively by the strong basic anion exchanger Amberlite I. R. A.-400 (NO_3^-). All ions, which can interfere with the operation of the column, including also phosphate ion, are, however, separated off under the prescribed conditions. After the column is washed with half-saturated ammonium nitrate solution, the uranium is eluted with nitric acid (1 + 9). The uranium in the eluate is determined quantitatively by a polarographic procedure employing the catalytic nitrate wave[3]. The method yields results that are just as good as the other procedures used heretofore.

Résumé

La nouvelle méthode qui est décrite pour l'enrichissement en uranium (VI) est analogue à l'extraction par l'éther bien connue[4]. Dans une solution d'acide nitrique presque saturée en nitrate d'ammonium, l'ion uranyle donne naissance à un complexe nitrate-uranyle chargé négativement qui est retenu quantitativement par l'échangeur d'anions fortement basique, la résine Amberlite I. R. A.-400 (NO_3^-). Tous les ions qui étaient susceptibles de perturber l'opération sur colonne, y compris l'ion phosphate, sont au contraire séparés dans les conditions choisies pour l'essai. Après lavage de la colonne avec une solution de nitrate d'ammonium demi-saturée, l'uranium est élué avec de l'acide nitrique (1 + 9). L'uranium est alors dosé polarographiquement dans l'éluat, grâce à la vague catalytique du nitrate[3]. Cette technique permet d'obtenir d'aussi bons résultats que ceux qui sont fournis par les méthodes habituellement employées jusqu'à ce jour.

Literatur

[1] *J. Korkisch, A. Thiard* und *F. Hecht*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1422.

[2] *J. Korkisch*, Dissertation, Universität Wien, 1957.

[3] *F. Hecht, J. Korkisch, R. Patzak* und *A. Thiard*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1283.

[4] *E. Hahofer* und *F. Hecht*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 417.

[5] *C. J. Rodden*, Analytical Chemistry of the Manhattan Project (National Nuclear Energy Series, Manhattan Project Technical Section, Div. VIII, vol. 1). New York-Toronto-London: MacGraw-Hill Book Comp. 1950. S. 34 bis 38.

[6] *S. Fischer* und *R. Kunin*, A/Conf. 8/P/818 (International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy). 1955.

[7] *E. K. Hyde*, A/Conf. 8/P/728 (International Conference on the Peaceful Uses of Atomic Energy). 1955.

[8] *O. Samuelson*, Ion Exchangers in Analytical Chemistry. New York: Wiley; Stockholm: Almqvist & Wiksell. 1953. S. 95.

[9] *F. Hecht* und *W. Reich-Rohrwig*, Mh. Chem. **53/54**, 596 (1929).

New York University and University of Buenos Aires

New Micro-Chemical Tests for Carbon and Nitrogen*

By

J. B. Niederl** and **J. A. Sozzi*****

With 1 Figure

(Received December 22, 1956)

While usage of organic reagents in analytical chemistry is now widely accepted, application of typical organic reactions in the same field, appears to merit more extensive investigation. The present paper is thought to be a step in this direction and deals with the detection of carbon and of nitrogen in organic as well as inorganic compounds, materials and mixtures.

The material to be tested is first subjected to fusion with metallic sodium according to *Lassaigne*[1] and as modified by *Sozzi* and *Niederl*[2]. However, instead of identifying the cyanide formed as Prussian blue, the cyanide is converted into methyl amine, employing the *Mendius*[3] reaction.

The methyl amine thus obtained can be identified in many ways: 1. litmus test analgous to *Emich*'s[4] test for ammonia; 2. iso-nitrile test according to *Hofmann*[5]; 3. microscopically in accordance with the standard procedures of chemical microscopy[6], and finally 4. by color reactions of the formaldehyde, its oxidation product.

---

* Dedicated to Prof. *Hans Lieb* on occasion of his 70th birthday.

Taken from the lecture and laboratory notes of Dr. *J. B. Niederl*, as used in his course of "Semi-Micro Qualitative Organic Analysis" at New York University, Graduate School and retested at the University of Buenos Aires, School of Medicine, Laboratory of Analytical Chemistry.

** Professor of Chemistry, New York University (retired); Avenida Santa Fe 3390, Buenos Aires, Argentina, and Rua Domingo Ferreira 263, Rio de Janeiro, Brazil.

*** Professor of Chemistry, University of Buenos Aires, School of Medicine (retired); Arcos 2073, Buenos Aires, Argentina.

In the present paper, the litmus test as well as the iso-nitrile reaction are featured. The first involves application of the successful and well proven capillary technique of *Emich*[4] while the second[5] uses one of the most sensitive identification tests by odor, known in organic chemistry.

The reactions involved are extremely simple:

$$HCN + 4\,H \rightarrow \underset{\text{Methyl amine}}{CH_3NH_2} + CHCl_3 + 3\,NaOH \rightarrow \underset{\text{Methyl iso-nitrile}}{CH_3NC}$$

Experimental

Apparatus: Ordinary laboratory gas burners; fish-tail burner; micro burner; forceps; micro-spatulas; ampule files; steam bath; fusion tubes: small test tubes, preferably Pyrex, 5-ml capacity; watch glasses, small, 3 to 5 cm in diameter; eye droppers; fusion capillary: glass tubing of 3-mm inner diameter and about 1-mm wall thickness are cut to give capillaries of about 12 cm in length. These are fused shut at one end (Fig. 1); glass wool; glass rods, 12 cm in length and 1, 2 and 3 mm in diameter.

Reagents: Metallic sodium, in 5-mg pieces, kept under benzene or di-ethyl ether; dilute hydrochloric acid (10%); sodium hydroxide solution (30%); ammonium sulfate; sucrose; zinc dust; chloroform; distilled water; calcium oxide, freshly ignited; red litmus paper or threads.

Detection of Carbon

Fusion: To 5 mg of metallic sodium contained in a dry fusion tube, are added about 1 mg of dry ammonium sulfate and about 1 mg of the material to be tested. Solids are introduced by means of a micro-spatula; liquids, by means of a small capillary, open at both ends. The mixture is first gently warmed until the sodium melts and penetrates the material. The ensuing reaction is allowed to proceed by itself, and heating is resorted to only when the reaction dies out. In this manner the reaction may have to be revived several times by brief periods of heating. The resulting melt need *not* be colorless. After cooling, one drop of distilled water is added with the eye dropper to destroy the excess of sodium. After cessation of the reaction, another drop is cautiously added. After the addition of about half a dozen drops of distilled water, the mixture is stirred by means of a glass rod and transferred to a watch glass. The solution must be strongly alkaline; if it is not, a drop of 30% sodium hydroxide solution is added. The extract is then evaporated to dryness on a steam bath. The residue obtained should now be free of any ammoniacal odor. If it is not, another drop of 30% sodium hydroxide solution is added, and the whole is again evaporated to dryness.

Reduction: To the dry residue is added about 20 to 30 mg of zinc dust and the mixture is then cautiously acidified with 10% hydrochloric acid. Reaction usually sets in immediately and is allowed to proceed at room temperature until most of the zinc dust has dissolved. Eventually and while still acidic, the reaction mixture is transferred to a watch glass and evaporated to dryness on a steam bath.

Litmus Test: The dry residue is mixed with an equal amount of dry, pre-heated calcium oxide. The resulting mixture is placed into the sealed end of the fusion capillary (Fig. 1). This is done as in melting point determination, i. e., by scooping-up some material and then letting the capillary drop through glass tubing upon a hard surface.

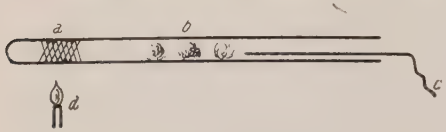


Fig. 1. Litmus Test. *a* Reaction Mixture, *b* Glass Wool, *c* Litmus Thread, *d* Flame

After introduction of the mixture several small glass wool wads are pushed into the fusion capillary. This serves to keep the fusion mixture in place and to clean the capillary of any adhering material. Finally, a strip of red litmus paper or thread is placed into the opening.

Now the fusion mixture is carefully heated by means of a micro burner. Usually it is not necessary to heat to glowing, and the heating may be stopped, as soon as a blue coloration of the litmus paper or thread becomes evident.

There always should be a blank performed under similar conditions to test the purity of the reagents used.

Iso-nitrile Test may be used instead of the litmus test: The dry reduced mixture is transferred from the watch glass to a small test tube. To it is then added a drop of chloroform and a drop of 30% sodium hydroxide solution. After stirring the mixture the test tube is stoppered and set aside at room temperature. After about ten minutes with occasional shaking, the test tube is opened and, if a nauseating odor is not perceptible, closed again and warmed on a steam bath. If, after this treatment, the unmistakable nauseating odor of carbyl-amine is not evident, the test has to be regarded as being negative. The typical fish odor of methyl amine, also indicating a positive test, is quite different from the methyl iso-cyanide odor.

Detection of Nitrogen

The test for nitrogen is performed just as that for carbon described above, except that instead of ammonium sulfate an equal amount of sucrose or any other nitrogen-free, easily combustible organic substance is added to the fusion mixture. Both, the litmus as well as the iso-nitrile test, are applicable.

Observations and Conclusions

In the course of 25 years of teaching semi-micro qualitative organic analysis, it was observed that once in a while students had difficulties in getting positive results with the Lassaign fusion test[1] when applied to certain types of organic nitrogen compounds such as azo dyes, amides, and compounds with complex ring structures.

Addition of an efficient carbon donor, such as a carbohydrate, and application of lower temperature in the fusion were some of the remedies used. However, while the last mentioned remedy, on the one hand, reduced the danger of possible decomposition and escape of the cyanide, on the other hand, it gave melts obscuring the Prussian blue reaction. This last difficulty lead to the gradual adaption of the methods presented in this paper, in which the final reaction product (the methyl amine, or the carbyl amine) is automatically subjected to distillation and hence efficient purification prior to final identification.

More recent extension of these tests to the element carbon, presented no difficulties.

Summary

Augmenting the *Lassaigne* fusion method, as modified by *Sozzi* and *Niederl*, by the *Mendius* reaction, allows the detection of carbon and of nitrogen as methyl amine which may be identified in several ways by well known standard tests.

Employment of *Emich*'s capillary technique converts the above procedure into a simple microchemical method.

Zusammenfassung

Die Anwendung der Reaktion von *Mendius* auf das von *Sozzi* und *Niederl* modifizierte Lassaignesche Schmelzverfahren erlaubt den qualitativen Nachweis von Kohlenstoff und Stickstoff in Form von Methylamin, das auf verschiedene Weise identifiziert werden kann. Die Anwendung der Emichschen Kapillartechnik ergibt einen einfachen mikrochemischen Nachweis für diese beiden Elemente.

Résumé

L'adjonction de la réaction de *Mendius* à la méthode de fusion de *Lassaigne* modifiée par *Sozzi* et *Niederl* permet de déceler le carbone et l'azote sous forme de méthylamine que l'on peut identifier de diverses façons à l'aide d'essais classiques bien connus.

L'emploi de la technique du capillaire d'*Emich* permet de transformer la méthode décrite en méthode microchimique simple.

Resumen

Aumento del método de fusión de *Lassaigne*, modificado por *Sozzi* y *Niederl*, por la reacción de *Mendius*, permite la detección del carbono y del nitrógeno, como metil amina, que se identifica con métodos bien conocidos.

Aplicando la técnica capilar de *Emich*, tranforma este procediemento en un simple micro-ensayo para estos dos elementos.

Resumo

O método de fusão de *Lassaigne*, modificado por *Sozzi* e *Niederl* pela reacão de *Mendius*, foi ampliado, permitindo, assim, a deteção do carbono e do nitrogenio, como metilamina, que se identifica pelos métodos já conhecidos.

Aplicando-se a técnica capilar de *Emich*, transforma-se este processo em um simples micro-ensaio.

Literatur

[1] *J. L. Lassaigne*, C. r. acad. sci., Paris **16**, 387 (1843); Chem. Zbl. **48**, 367 (1843).

[2] *J. A. Sozzi* und *J. B. Niederl*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1512.

[3] *O. Mendius*, Ann. Chem. **121**, 139 (1862).

[4] *F. Emich*, in *E. Abderhaldens* Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 3. Wien: Urban & Schwarzenberg. 1921. S. 97—99.

[5] *A. W. Hofmann*, Ann. Chem. **146**, 107 (1868).

[6] *A. Bolland*, Mh. Chem. **29**, 969 (1908).

College of Pharmacy, University of Colorado, Boulder, Colorado, U. S. A.

Optical Crystallographic Properties of Some Chemotherapeutic Compounds Used in Tuberculosis*

By

John W. Shell, Charles F. Poe, and Norman F. Witt**

With 6 Figures

(Received January 31, 1957)

Optical properties of the crystals of dilituratesof organic compounds have been used in this laboratory for the purpose of identification[1, 2, 3]. The present communication reports the optical properties for several compounds used as chemotherapeutic agents in treatment of tuberculosis. These compounds include isonicotinic acid hydrazide, Tibione, and several of their derivatives.

Experimental

The dilituric acid derivative of isonicotinic acid hydrazide was prepared by reacting equimolar quantities of the hydrazide and the dilituric acid (5-nitrobarbituric acid) in 95% ethanol and refluxing the mixture for a period of four hours. Crystals usually separated on cooling and were filtered out and dried. The crystals were dissolved in 50% aqueous ethanol and recrystallized until a pure compound was obtained.

Refluxing a mole-to-mole mixture of benzaldehyde and isonicotinic acid hydrazide in absolute ethanol solution for one hour produced crystals of l-isonicotinyl-2-benzylidene hydrazide. They were recrystallized from ethanol.

Each compound was tested for solvent of crystallization by means of the Abderhalden method. Melting points were used to determine the purity of each compound. Molar refraction determinations and melting point values are reported for all compounds as a check on purity. Because of decomposition, melting points are, in some instances, of little value.

---

* Dedicated to Prof. *Hans Lieb* on occasion of his 70th birthday.

** For reprints address *C. F. Poe.*

Density determinations were made by an adaption of the free flotation method of *Thomson* as described by *Bernal* and *Crowfoot*[4]. Some of the above-mentioned data are included in Table I.

The optical properties of the crystals were determined by use of a Leitz petrographic microscope, model no. 30 Cm, equipped with a five-axis universal stage. Light obtained from a sodium vapor source, giving monochromatic light of 5893 Å, was used. Refractive indices were measured by the immersion method. The media used were those described by *Winchell*[5]. The temperature at which the indices were determined was 25° ± 1° C. The refractive indices were measured from the principal crystallographic orientations, as indicated by interference figures, and usually are accurate to ± 0,002.

Table I. Physical Data

Compound	Melting Point	Density	$\sqrt[3]{\alpha\beta\gamma}$	Molar Refraction	
				Calculated	Observed
Isonicotinic acid hydrazide, $C_6H_7N_3O$ ...	171°	1.431	1.657	35.7	35.3
Isonicotinic acid hydrazide diliturate, $C_{10}H_{10}N_6O_6$	256° decom.	1.643	1.696	73.8	72.9
1-Isonicotinyl-2-benzylidene hydrazide, $C_{12}H_{13}N_3O$.....	199°	1.325	1.746	67.5	68.9
1-Isonicotinyl-2-isopropyl hydrazide, $C_8H_{13}N_3O$ ..	112°*	1.215	1.612	51.4	51.3
Tibione, $C_{10}H_{12}N_4OS$	225° decom.	1.388	1.751	69.2	69.4
Tibione-p-nitrophenyl hydrazone, $C_{16}H_{16}N_7O_2S$	215°	1.384	1.797	98.4	99.6

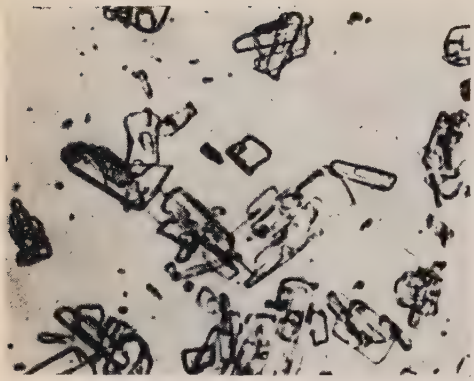
* Sublimation point.

The optical data are presented in Table II. Since all such data are physical constants for a certain polymorph only of a compound, they should be qualified by stating the solvent and the conditions of crystallization. For instance, the polymorphism of sulfanilamide was studied in this laboratory[6], and three distinct phases were discovered. In the present study, 50% aqueous ethanol was used to recrystallize isonicotinic acid hydrazide, its diliturate, Tibione, and Tibione-*p*-nitrophenyl hydrazone;

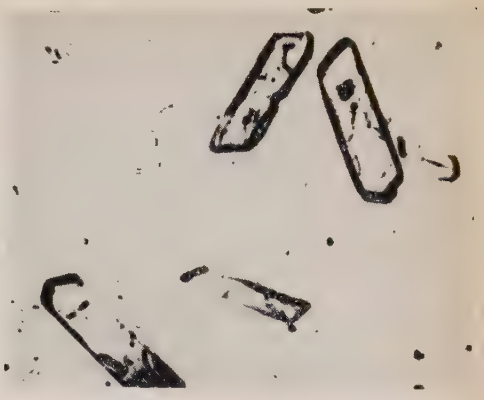
Table II. Optical Crystallographic Properties

Compound	Crystal System and Habit	Optic Orientation	Optic Axial Angle	Dispersion	Refractive Indices		
Isonicotinic acid hydrazide	Orthorhombic, columnar	$a = Z$ $b = Y$	27°*	strong, axial: $v > r$	1.505	1.733	1.746
Isonicotinic acid hydrazide diliturate	Monoclinic, tabular	$b = X$ $c \wedge Z = (-)28°$	44°	strong, axial: $v > r$	1.427	1.797	1.893*
1-Isonicotinyl-2-benzylidene hydrazide ...	Orthorhombic, columnar	$a = Y$ $b = Z$	82°	strong, axial: $v > r$	1.507	1.78	2.126*
1-Isonicotinyl-2-isopropyl hydrazide	Orthorhombic, acicular	$a = X$ $b = Z$	69°*	weak, axial: $r > v$	1.517	1.631	1.694
Tibione	Orthorhombic, tabular	$a = Z$ $b = Y$	88°	weak, axial: $v > r$	1.558	1.762	2.050*
Tibione-*p*-nitrophenyl hydrazone	Orthorhombic, tabular	$a = Z$ $b = X$	88°	strong, axial: $v > r$	1.558	1.770	2.105

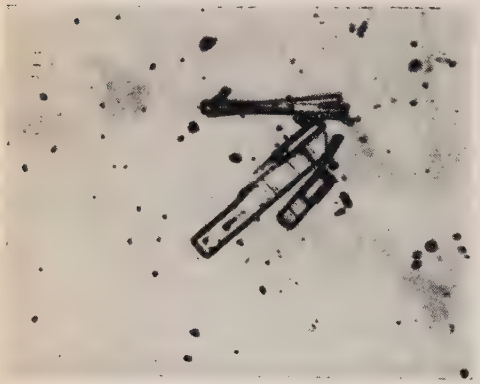
* Calculated.



1 Isonicotinic Acid Hydrazide

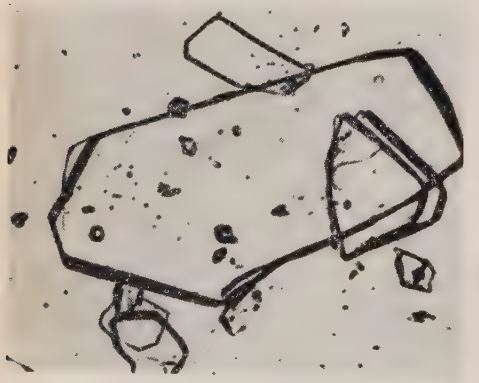


2 Isonicotinic Acid Hydrazide Diliturate



3 1-Isonicotinyl-2-benzylidene Hydrazide

4 1-Isonicotinyl-2-isopropyl Hydrazide



5 Tibione

6 Tibione-p-nitrophenylhydrazone

All magnifications are 240×

l-isonicotinyl-2-isopropyl hydrazide was recrystallized from benzene; and 1-isonicotinyl-2-benzylidene hydrazide from ethanol.

Since the typical crystalline habit is best shown by photomicrographs, this information is recorded in Figs. 1 to 6.

Summary

The optical properties of isonicotinic acid hydrazide, isonicotinic acid hydrazide diliturate, 1-isonicotinyl-2-benzylidene hydrazide, 1-isonicotinyl-2-isopropyl hydrazide, Tibione, and Tibione-*p*-nitrophenyl hydrazone have been determined. The melting points, densities, and molar refractions of these compounds have been determined. The optical properties are valuable for identification purposes.

Zusammenfassung

Die optischen Eigenschaften der Kristalle von Isonikotinsäurehydrazid, Isonikotinsäurehydraziddiliturat, 1-Isonikotinyl-2-benzylidenhydrazid (Isoteben), 1-Isonikotinyl-2-isopropylhydrazid, 4-Acetylaminobenzaldehydthiosemicarbazon (Tibion, Conteben) und Tibion-*p*-nitrophenylhydrazon wurden bestimmt. Außerdem wurden für diese Verbindungen Bestimmungen von Schmelzpunkt, Dichte und Molekularrefraktion ausgeführt. Die optischen Eigenschaften der Kristalle eignen sich für die Feststellung der Identität.

Résumé

Détermination des propriétés optiques des points de fusion, des densités et des réfractions moléculaires de l'hydrazide isonicotinique, du diliturate de l'hydrazide isonicotinique, de l'isonicotinyl-1, benzylidène-2 hydrazide, de l'isonicotinyl-1, isopropyl-2 hydrazide, de la tibione et de la p-nitrophénylhydrazone de la tibione. Les propriétés optiques sont utilisables pour l'identification de ces composés.

Literature

[1] *R. Castle, N. F. Witt,* and *C. F. Poe,* J. Amer. Chem. Soc. **71**, 228 (1949).

[2] *J. Larsen, C. F. Poe,* and *N. F. Witt,* Mikrochem. **34**, 351 (1949).

[3] *J. W. Shell, N. F. Witt,* and *C. F. Poe,* Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 145.

[4] *J. D. Bernal* and *D. Crowfoot,* Nature **134**, 809 (1934).

[5] *A. N. Winchell,* The Microscopic Characters of Artificial Inorganic Solid Substances or Artificial Minerals. New York: Wiley. 1931, p. 24.

[6] *B. J. White, N. F. Witt, J. A. Biles,* and *C. F. Poe,* Analyt. Chemistry **22**, 950 (1950).

Coates Chemical Laboratories Louisiana State University, Baton Rouge

A Spot Test for Nitrates*

By

Philip W. West and **P. L. Sarma**

(Received February 21, 1957)

One of the ions most commonly encountered in analytical work is nitrate. Yet, it is one of the most difficult to detect and determine with certainty, because the available analytical procedures are mainly based on general (redox) type reactions. The present investigation was undertaken in an attempt to find a more selective and sensitive reaction on which to base analytical procedures for this ion.

Among the large number of compounds suggested as nitrate reagents, particular interest was shown to brucine[12], 1,2,4-phenoldisulfonic acid[8], diphenylamine[10], carbazole[7], *p*-toluidine[14], salicylic acid[15], nitron[3], hydrostrychnine[6], diphenylbenzidine[13], pyrogallolsulfonic acid[17], and 1,2,4-xylenol[1]. Although most nitrate reagents are organic compounds, particularly of the benzene and naphthalene series, there are also a few inorganic reagents like ferrous sulfate[19], iridium dioxide[11], selenic acid[16], and copper[5] that are of established importance.

Indole is a sensitive reagent for nitrites[2]. With excess of sulfuric acid an alcoholic solution of indole gives a red coloration also with nitrates. Highly sensitive tests being known for nitrites, reduction of nitrates to nitrite and detection in this form has been suggested[9]. The use of Nessler's reagent subsequent to the reduction of nitrates to ammonia has also been recommended[18].

In 1925, *Vagi*[20] found that in the presence of concentrated sulfuric acid, sodium 1,8-dihydroxy-3,6-naphthalene-sulfonate reacts with nitric acid producing a red or an orange color. Using this reaction, he detected 0,15 g potassium nitrate in one liter of solution. The present investigation showed that with large excess of concentrated sulfuric acid, disodium salt

* Dedicated to Prof. *Hans Lieb* on occasion of his 70th birthday.

of 1,8-dihydroxy-3,6-naphthalenesulfonic acid forms a yellow color also with microgram quantities of nitrates and is therefore a sensitive nitrate reagent for spot test techniques. This was the most promising of all reactions examined and was selected for study.

Reagents

(a) Disodium salt of 1,8-dihydroxy-3,6-naphthalene-disulfonic acid (chromotropic acid), 0,05 per cent in concentrated sulfuric acid. The salt is mixed with the acid, and lumps are pressed against the container until dissolution is complete. The reagent should be stored in an all-glass container away from light.

(b) Concentrated sulfuric acid (nitrate free).

An aqueous solution of chromotropic acid may be used instead of a sulfuric acid solution. However, aqueous solutions deteriorate within a day or two, producing a brown coloration. If stored in an all-glass container away from light, the sulfuric acid solution can be preserved for months, although a light brown color will develop within a few weeks. The sulfuric acid solution cannot be preserved in a rubber or bakelite stoppered bottle, because deep colorations are produced in contact with these organic materials (formaldehyde gives particularly intense colors with chromotropic acid).

Experimental Part

The reaction between chromotropic acid and nitrate takes place at room temperature, but becomes complete only at higher temperature. For the detection of nitrates, however, the reaction proceeds sufficiently far at the temperature obtained on treating the aqueous test solution with the solution of the reagent in concentrated sulfuric acid.

The reaction between chromotropic acid and nitrates is markedly influenced also by the reagent concentration and amount of sulfuric acid present in solution. For a given quantity of nitrate, the color is maximum at a certain optimum concentration of chromotropic acid. Within limits, an increase in sulfuric acid concentration also causes an increase in color intensity. These effects are not critical for spot test work.

Stability of Color. The yellow coloration obtained with nitrate and chromotropic acid has maximum absorption around 415 nμ, where neither chromotropic acid nor sulfuric acid shows any absorption. The color is stable for days except in the presence of a large excess of sulfuric acid, which causes a reduction of color intensity after a few hours.

Sensitivity. 0,2 μg of nitrate ion can be detected at a dilution of 1:200,000. The test is nearly as sensitive as the diphenylbenzidine[13] and pyrogallolsulfonic acid[17] tests; but unlike diphenylbenzidine and pyrogallolsulfonic acid, chromotropic acid gives a blank with distilled water that remains colorless for hours.

Interferences. The interferences were determined by following the scheme propose by *West*[21]. Iodides give a brown precipitate. Bromides furnish a yellow to orange coloration because of the liberation of elemental bromine. Chlorides lighten the yellow coloration obtained with nitrate if they are present in large excess. Oxidants give yellow, orange, brown or red colorations depending upon the concentration of the oxidizing agent. Oxidants, however, may be readily removed previous to testing with chromotropic acid by treating the test solution with sodium sulfite and sulfuric acid. Nitrite, present in the test solution, is destroyed with the use of sulfamic acid.

Since phenolic compounds are easily nitrated, the yellow reaction product of nitrate and chromotropic acid is probably a nitro derivative of the latter. Phenoldisulfonic acid is known to react with nitrates forming the yellow tripotassium salt of nitrophenoldisulfonic acid[4]. Many nitroderivatives of naphthalene are also known to be yellow. Since, however, oxidation and nitration processes usually occur together, particularly in the nitration of naphthalene derivatives, the yellow products of nitrate and chromotropic acid may also contain some oxidized compound of chromotropic acid.

Recommended Procedure

If oxidizing agents or nitrite are present, treat the test sample with sodium sulfite, sulfuric, and sulfamic acids. Place a drop of the sample solution which is ready for testing in the depression of a white spot plate and add a drop of 0,05 per cent chromotropic acid (salt) solution in sulfuric acid. If no color forms, add a few drops of concentrated sulfuric acid, where upon a yellow color will be observed in the presence of nitrate.

A drop of the reagent produces immediate appearance of a yellow coloration if the test solution contains milligram quantities of nitrate. With microgram amounts, the yellow color is observed only upon the further addition of a few drops of concentrated sulfuric acid.

Acknowledgment

Grateful thanks are due to the Mine Safety Appliances Company for support of this investigation and to the J. N. Tata Trust for a grant.

Summary

At a dilution of 1:200.000, and in the presence of excess sulfuric acid, as little as 0.2 μg nitrate ion forms a yellow color with chromotropic acid. Interfering colors due to nitrites and oxidizing agents are eliminated by previous treatment of the test sample with sodium sulfite, sulfuric acid, and sulfamic acid.

Zusammenfassung

Bis zu einer Verdünnung von 1 : 200000 geben noch 0,2 μg Nitration bei Gegenwart überschüssiger Schwefelsäure mit Chromotropsäure eine gelbe Farbe. Störende Farbreaktionen durch Nitrit und andere Oxydationsmittel lassen sich durch vorhergehende Behandlung der Probe mit Natriumsulfit, Schwefelsäure und Amidosulfonsäure ausschalten.

Résumé

En quantités de l'ordre de grandeur de 0,2 μg, à une dilution de 1 : 200000 et en présence d'un excès d'acide sulfurique, les ions nitrate donnent une coloration jaune avec l'acide chromotropique. Les colorations gênantes dûes aux nitrites et aux réactifs oxydants sont éliminées par un traitement préalable de l'échantillon à examiner à l'aide de sulfite de sodium et des acides sulfurique et sulfamique.

Literature cited

[1] *J. Blom* and *C. Treschow*, Z. Pflanzenernähr., Düngung, Bodenk. **13 A**, 159 (1929).
[2] *O. Bujwid*, Chem.-Ztg. **18**, 364 (1894).
[3] *M. Busch*, Ber. dtsch. chem. Ges. **38**, 861 (1905).
[4] *E. M. Chamot* and *D. S. Pratt*, J. Amer. Chem. Soc. **32**, 630 (1910).
[5] *L. J. Curtman* and *S. H. Lebowitz*, Chem. News **132**, 293 (1926).
[6] *G. Denigès*, Bull. soc. chim. France (4) **9**, 544 (1911).
[7] *C. Graebe* and *C. Glaser*, Ann. Chem. **163**, 347 (1872).
[8] *A. Grandval* and *H. Lajoux*, C. r. acad. sci., Paris **101**, 62 (1885).
[9] *F. L. Hahn* and *G. Jaeger*, Ber. dtsch. chem. Ges. **58** B, 2335 (1925).
[10] *A. W. Hofmann*, Ann. Chem. **132**, 160 (1864). See also *H. A. Suter* and *P. H. Suter*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 1136.
[11] *W. Iwanow*, Zhur. Russ. Fiz. Khim. Obshchestva **44**, 1772 (1912).
[12] *R. Kersting*, Ann. chim. pharm. **125**, 254 (1863).
[13] *E. A. Letts* and *F. W. Rea*, J. Chem. Soc. London **105**, 1157 (1914).
[14] *A. Longi*, Z. analyt. Chem. **23**, 350 (1884).
[15] *G. Loof*, Pharmaz. Zentralhalle **31**, 700 (1890).
[16] *J. Meyer* and *W. Wagner*, Ber. dtsch. chem. Ges. **55** B, 1216 (1922).
[17] *L. U. de Nardo*, C. r. acad. sci., Paris **188**, 563 (1929).
[18] *E. Pozzi-Escot*, Ann. chim. analyt. chim. appl. **14**, 445 (1909).
[19] *E. Schroder*, Z. anorg. Chem. **202**, 382 (1922).
[20] *S. Vagi*, Z. analyt. Chem. **66**, 14 (1925).
[21] *P. W. West*, J. Chem. Education **18**, 528 (1941).

Department of Chemistry, The University, Birmingham 15, England

A New Lead Chlorofluoride Method for the Determination of Fluorine in Organic Compounds*

By

R. Belcher and **A. M. G. Macdonald**

(Received March 11, 1957)

Some years ago, a gravimetric method for the determination of fluorine in organic compounds was described[1]; this was based on decomposition of the compound by fusion with alkali metal in a nickel bomb followed by precipitation as lead chlorofluoride. The method has given very satisfactory results under routine conditions but, as was indicated previously, it suffers from the limitation that good results can only be obtained if more than 25 mg of fluoride are present. When only small samples are available, we use a thorium nitrate micro-titration[2], which gives results of similar accuracy but is less preferable than the lead chlorofluoride method for routine use because the end-points, as in all thorium nitrate titrations, give trouble to unpractised operators.

The solubility losses which occur when less than 25 mg of fluoride are present in the previous lead chlorofluoride method[1] can be reduced by decreasing the volume of lead chloride precipitant added, but the method is not then applicable over a sufficiently wide range. Since the deficiency of the precipitant lies in its comparatively low lead content, it seemed possible that lower amounts of fluoride could be precipitated quantitatively if an equimolecular solution of lead and chloride were used. This would also be more likely to give a precipitate of the theoretical composition. Contrary to expectation, we found that lead chloride dissolves slightly more readily in lead nitrate solutions than in water; there is some evidence[3, 4] that a salt, $PbClNO_3$, is formed. Thus the lead concentration can be increased almost indefinitely without fear of precipitating lead chloride.

* This paper is dedicated to Professor Dr. *Hans Lieb*, former teacher of *R. B.*, on the occasion of his 70th birthday.

When an equimolecular solution of lead and chloride was tested under the conditions described later in this paper, satisfactory results were obtained down to 10 mg of fluoride, which is a considerable improvement on the older method. With more than 30 mg of fluoride present, results were low because of insufficient precipitant, and with only 5 mg of fluoride, results were very variable. However, when the volume of the initial solution was reduced to 10 ml and the amount of acetic acid added was reduced accordingly, recoveries of 3–5 mg of fluoride were satisfactory with 10 ml of precipitant. In this range, recoveries were low from 1 *N* sodium nitrate solution but were quantitative from 0.25 *N* solution. This could be useful in special cases where decomposition can be effected by hydrolysis and the volume can be kept low. In the generally recommended range (10–30 mg of fluoride), the results were not affected by up to 5 ml of 5 *N* sodium nitrate solution (the highest amount tested).

As in the previous method, we found that precipitation from acetic acid solution gave the best results; the p_H of the final solution was usually 3.8–4.0. Recoveries from nitric or perchloric acid solutions of the same p_H were less satisfactory. However, nitric acid must be used to neutralize the alkali formed from the decomposition of the excess of alkali metal; even moderate amounts (5 ml of 2.5 *N*) of sodium acetate caused slightly low recoveries.

After the present work had been completed we found that a somewhat similar macro-determination has been suggested by *Fischer* and *Peisker*[5] who used equimolecular solutions of lead nitrate and potassium chloride. Their method gave high results in the range 10–30 mg of fluoride and has been extensively criticised by *Winkler*[6]. The present method has the advantage of introducing fewer unnecessary ions and could undoubtedly be extended to deal with larger amounts of fluoride by increasing the volume of precipitant added.

It was previously shown[1, 7] that the original gravimetric method can be applied without modification to compounds containing chlorine, bromine, iodine and nitrogen. Cyanide formed from nitrogen in the compound does not interfere in the present method. The amounts of chloride, bromide and iodide which can be tolerated without interference are 100, 50 and 30 mg respectively; comparatively, with the reduction in the amount of fluoride, the present method is thus as satisfactory in this respect as the old. With bromine-containing and especially with iodine-containing compounds, it is advisable to keep the amount of fluorine taken as low as possible to avoid any risk of coprecipitation of lead bromide or iodide.

Potassium (instead of sodium) fusion is necessary for the complete decomposition of many fluorocarbons and chlorofluorocarbons[2]; recently,

we have found that some compounds containing an almost completely fluorinated ring may also require potassium fusion e. g. S-benzylthiouronium perfluoro-octane sulphonate. The substitution of potassium for sodium does not affect the accuracy of the method. Typical results which have been obtained on standard and research compounds are shown in Table 1. A series of 12 simultaneous determinations on standard compounds containing about 30% of fluorine showed an average deviation of 0.16% with a maximum error of 0.38%.

Table I

Compound	Sample (mg)	F found (%)	F present (%)
m-Trifluoromethylbenzoic acid (MAS)	100.48	29.84	29.98
	38.40	30.00	
Trifluoroacetanilide (MAS)	85.54	29.96	30.14
	35.50	30.07	
2-Nitro-5-iodobenzotrifluoride	97.50	17.87	17.98
Trifluoroacetyl-*p*-chloraniline	86.07	25.14	25.50
2-Acetamido-5-nitrobenzotrifluoride	71.12	22.70	22.97
m,m'-Bis-trifluoromethylazobenzene.....	50.83	35.73	35.74
Perfluorodi*cyclo*hexylethane*.....	39.83	74.73	74.60
1,4-Dichlorooctafluorobutane*.....	29.66	55.60	56.10
Ethyl trifluoromethyl ketone	43.67	45.22	45.24
1-Bromo-2-chlorodifluoroethylene	55.71	21.74	21.42
1 *H*-nonafluoro*cyclo*hexene*	36.38	69.83	70.1
1,2,3-Trichloropentafluoro*cyclo*butane*	59.95	38.19	38.10

* Decomposed with potassium.

Organic compounds containing metals have also been analysed successfully by this method. Potassium, sodium, copper, magnesium, barium, cadmium and mercury do not interfere in the amounts present in organic compounds. Compounds containing iron or aluminium have not been encountered but these might cause trouble.

When the organic compound contains sulphur, phosphorus or arsenic, insoluble lead salts are produced and precipitation of lead chlorofluoride may be incomplete. This defect of the original method[1] was later[7] overcome by applying *Hoffman* and *Lundell*'s method[8], in which a large excess of lead is used and, after filtration, the precipitate is dissolved in nitric acid and titrated by *Volhard*'s method. This procedure circumvents the interference of sulphate and moderate amounts of phosphate.

At first sight, it might appear advantageous to apply the *Hoffman* and *Lundell* method in all cases as a standard procedure but actually it is much more troublesome and tedious to carry out. In particular, the very favourable gravimetric factor is lost and the end-point of the final titration is much less sharp than in the normal Volhard titration. Lead

chlorofluoride is precipitated under conditions unfavourable for purity and the subsequent digestion cannot be depended upon to correct the composition of the precipitate[9]. Owing to the high concentration of lead present, coprecipitation of lead chloride can occur, especially in the presence of phosphate and arsenate, unless the method is used with great care. There are conflicting statements in the literature concerning the interference of phosphate; some authors[8, 10] state that there is little or no interference whereas *Reynolds* and *Jacob*[11] have indicated that coprecipitation of lead chloride is considerable. Recently[12], the interference has been ascribed to the formation of lead chlorophosphate but, in our experience, coprecipitation of lead chloride is more likely. In the last few years, we have found that compounds of high phosphorus content tend to give high results and this work has recently been confirmed[12]. In a previous paper[7], it was stated that up to 50 mg of phosphate could be tolerated in the procedure; in that work the phosphate was taken through the sodium fusion process so that only a small amount of phosphate was actually present at the time of precipitation of lead chlorofluoride because of partial evolution as phosphine. The *Hoffman* and *Lundell* method was used earlier for lack of a better, but it would be a definite advantage to apply our new method under all circumstances and to do so a prior separation of interfering ions would be essential.

Separation of Phosphate

One of the oldest methods for separating phosphate is precipitation as silver phosphate[12, 13] but the method is lengthy and involves so many filtrations that the volume of the final solution is too large for quantitative precipitation of lead chlorofluoride by our method. Zinc carbonate, which we have used successfully on the micro scale[14], proved troublesome on this larger scale and other known methods have various disadvantages. Several approaches were tried in a search for more convenient methods. Solutions and suspensions containing lead, barium, silver, zinc, magnesium, cadmium, nickel, cobalt, manganese, aluminium and iron salts were tested. The most promising results were obtained with suspensions of barium or lead carbonate or of zinc oxide. Unfortunately, barium and lead carbonates removed not only phosphate, sulphate and arsenate but also part of the fluoride. Zinc oxide removed phosphate much more efficiently than any of the other suspensions and did not affect the fluoride content; attention was concentrated on this reagent.

Zinc oxide completely removed small amounts of phosphate when it was shaken with a solution of p_H about 5. (The completeness of the removal of phosphate was tested after filtration, by addition of lead chloronitrate solution and acetic acid. If these are used as in the recommended procedure, even 0.25 mg of phosphate can be detected in 80 ml of

solution.) However, larger amounts of phosphate could only be removed if an excess of zinc were present in the solution; this was most easily achieved by adding acid to the zinc oxide suspension. When zinc phosphate was precipitated by zinc acetate or nitrate alone, the precipitate was very gelatinous and difficult to filter and wash; this was true when zinc oxide was also added. But when the phosphate was precipitated by addition of acid to the zinc oxide suspension, the mixed precipitate of oxide and phosphate was quite granular and readily filterable. The phosphate is probably adsorbed on the surface of the zinc oxide. It is interesting that the phosphate was not completely precipitated by an amount of zinc acetate or nitrate equivalent to that released by the acid from zinc oxide.

Zinc oxide also played an important role in providing automatic p_H control. Unless the p_H of the mixture was nearly neutral before filtration, some phosphate remained in solution. Under the recommended conditions, the final p_H was 6.5–7.0. The attainment of the correct p_H was quite slow; to hasten this, the mixture was almost boiled and then allowed to cool for a short time with frequent shaking. Because of the fluoride present, prolonged boiling was impossible.

As far as quantitative removal of phosphate is concerned, the acid used seems to be immaterial; acetic, formic, nitric, perchloric and hydrochloric acids were satisfactory. However, when fluoride and a large amount of sodium nitrate were also present, the surest removal of phosphate, combined with the best quantitative recoveries of fluoride, was obtained when a mixture of nitric and acetic acids was used.

Table II

mg of fluoride present	mg of phosphate present	mg of fluoride found	
		No $NaNO_3$ present	5 ml of 2 *N* $NaNO_3$ present
10	25	10.05	9.91
10	50	9.85	9.85
20	25	19.79	20.22
20	50	20.20	19.83
30	25	29.66	29.87
30	50	29.85	29.97
30	—	29.75	29.89

Five drops of about 5 *N* acid were sufficient to remove at least 50 mg of phosphate; since we were only interested in the amounts liable to be obtained from organic compounds, we did not attempt to extend the method further. One ml of 5 *M* zinc acetate or nitrate did not affect the direct determination of fluoride. Results obtained on synthetic solutions are shown in Table II; the phosphate was added directly to the fluoride solution.

Because of the impossibility of obtaining suitably large amounts of standard organic compounds containing fluorine and phosphorus, we found the initial testing of this procedure troublesome. The use of mixtures of organic compounds is not to be recommended on the semimicro scale of working because it is difficult to get sufficient alkali metal into the bomb to decompose all the organic material; if the compounds are decomposed separately and then mixed, the volume of solution and the amount of alkali nitrate are too large. Satisfactory results were obtained when a standard fluoride solution was added to a solution of the melt from phosphorus-containing compounds, or when phosphate solution was added to the melt from standard fluorine-containing compounds. In a previous paper[7], the treatment of the fusion solution with hydrogen peroxide to convert all phosphorus compounds to phosphate was recommended. The definite identification of the form in which phosphorus is present after fusion is very difficult, for the strongly reducing nature of finely divided carbon vitiates the results of qualitative tests. In the present work, we omitted the oxidation with peroxide and encountered no trouble which could possibly be attributed to the presence of phosphorus compounds, other than phosphate, in the solution. Of course, phosphide is formed in the bomb; on treatment with ethanol and water, this either escapes as phosphine or is converted to phosphate.

Before the solution from the fusion can be treated with zinc oxide, it must be neutralised with nitric acid. Usually so much carbon was formed that an indicator colour change could not be observed. When the solution was filtered to remove carbon, the final volume of the solution was too large and the method, involving three filtrations in all, became tedious. The addition of a foaming agent permitted the indicator change to be observed easily on the foam but the agent itself interfered with the subsequent procedure. The use of a p_H meter enabled the volume of the solution to be kept to a minimum; the carbon was then filtered off along with the zinc oxide and phosphate.

Table III

Compound	Sample (mg)	F found (%)	F theor. (%)	P theor. (%)
$C_{12}H_{12}O_8F_{16}P_2$	40.47	46.4	46.8	9.5
$C_{10}H_{10}O_3F_6NP$	26.58	34.08	33.8	9.2
$C_{14}H_{14}O_2F_3PN_2$	66.29	16.86	17.3	8.5
	75.11	17.04		
$C_6H_5O_3PF$	136.97	7.59	7.54	12.6
$C_{11}H_{14}PF_3 \cdot HgBr_2$	134.04	9.59	9.59	5.2
$C_{33}H_{42}P_3F_9 \cdot CuI$	94.58	18.85	19.15	10.41

Typical results which have been obtained with research compounds using the outlined procedure are shown in Table III. The accuracy attainable is almost as good as that of the general method; the results may tend to be slightly low (0.3—0.5%) in some cases.

Separation of Sulphide

When compounds containing sulphur are fused with alkali metal, sulphide is formed and lead sulphide would eventually precipitate; lead sulphate also would interfere. The zinc oxide method outlined above is of course useless for removal of sulphate but was found to give an excellent separation of sulphide. At least 50 mg of sulphide could be quantitatively precipitated by the same procedure. We found no indication that any sulphate was formed during the fusion of an organic compound and later treatment. However, the procedure from the opening of the bomb to the addition of zinc oxide should be carried out as rapidly as possible so that the alkaline solution does not stand open to atmospheric oxidation for prolonged periods. Should the compound contain a large percentage of sulphur, it might be advisable to carry out the decomposition of the excess of alkali metal with ethanol under an atmosphere of nitrogen or carbon dioxide. Typical results obtained by the given method are shown in Table IV.

Table IV

Compound	Sample (mg)	F found (%)	F theor. (%)	S theor. (%)
Sodium perfluoro-octane-sulphonate*	20.76	61.84	61.86	6.14
S-benzylthiouronium perfluoro-octane sulfinate*	36.06	49.22	49.66	9.86
Cyclohexylamine salt of trifluoro-methanesulphonic acid	97.18	23.17	22.89	12.85
Di-(S-benzylthiouronium) 2 H : 3 H-hexafluoroadipate	70.67	19.55	19.48	10.92

* Decomposed with potassium.

Interference of Arsenic

Tests on synthetic solutions showed that as much as 100 mg of arsenite, added as the sodium salt, did not interfere with the direct determination of fluoride as lead chlorofluoride. Lead arsenate precipitated heavily under the usual conditions. We did not expect that any arsenate could be formed under the conditions of the method for organic compounds, yet when arsenic-containing compounds were taken through the procedure, high recoveries of fluorine were obtained. It seems incredible that arsenate could be formed during the fusion and the small traces which are (only

sometimes) finally found probably come from the spontaneous decomposition of arsenide when ethanol and water are added to decompose the excess of alkali metal. Attempts to reduce this small amount of arsenate by treatment with magnesium powder or ribbon were only successful in hydrochloric acid solution; if a bomb solution is neutralized with hydrochloric acid, so much chloride ion is formed that lead chloride will eventually precipitate. Other methods for the reduction of arsenate, e. g. hypophosphite or iodide treatment, were obviously useless for our purpose. The zinc oxide separation which proved successful in the cases of phosphate and sulphide was less satisfactory for the removal of arsenate. When 20—50 mg of arsenate were present the removal of arsenate was perfect but the recoveries of fluoride from synthetic solutions were about 3 per cent low. The amount of arsenate from a fusion solution would be considerably less than this. Of six fusion solutions from arsanilic acid and trifluoromethylbenzoic acid four gave excellent recoveries of fluorine but two were 1.5 and 4 per cent low for no obvious reason. The problem presented by the analysis of compounds containing arsenic and fluorine is not pressing, for very few such compounds have been prepared. One satisfactory method already exists[14] and we propose to return to the problem at a later date.

Experimental

Reagents:

Lead chloronitrate solution. Dissolve 10.5 g of lead chloride and 13 g of lead nitrate by boiling with 1 litre of distilled water. Some lead chloride may precipitate on standing. If heavy precipitation occurs, which may happen readily in very cold weather, the precipitated lead chloride must be redissolved by heating. A light scattering of crystals can be ignored, if the solution is decanted before use.

Procedure

a) *Fusion:* Weigh enough sample into the cup of the nickel bomb[1] to give 10–30 mg of fluorine. Weigh solids from a weighing tube and liquids in gelatine capsules. Add 300–500 mg of alkali metal in small pellets (sodium is used for all compounds *except* fluorocarbons, chlorofluorocarbons and compounds containing a fully fluorinated ring or long chain, all of which require potassium). Soften a copper asbestos-packed gasket by heating to redness and dropping in ethanol and place in position in the bomb. Close the bomb tightly and heat for 1–1$^1/_4$ hours in a muffle furnace at 600–650° C. (Heating the bomb above 650° softens the nickel, shortens the life of the bomb and is not recommended. With proper care, a bomb should last for several hundred determinations.) Cool the bomb in a current of air.

b) *Treatment of the melt:* Remove the lid of the bomb and wash any material adhering to the underside into a 250-ml beaker with not more

than 10 ml of distilled water. Place the cup of the bomb in the beaker and fill it with ethanol. After several minutes, stir the contents of the cup with a small nickel rod and add drops of water at intervals to complete the destruction of the excess of sodium without explosion. (If potassium was used in the fusion its destruction should be effected entirely with ethanol; water should not be added until the bomb is ready to be rinsed). Empty the contents of the cup into the beaker and rinse the cup thoroughly. The volume of the solution should not exceed 30 ml at this stage, especially if the zinc oxide separation is to be used.

1. Treatment for compounds containing halogens and/or nitrogen.

Filter the solution through a Pregl No. I filter to remove carbon and transfer quantitatively back to the beaker. Add some drops of methyl red indicator and neutralise the solution with 5 N nitric acid.

2. Treatment for compounds containing phosphorus or sulphur.

Adjust the p_H of the solution to 5 ± 0.3 with 5 N nitric acid using a p_H meter. Carefully rinse the electrodes with an amount of distilled water not exceeding 10–15 ml. Add 3 drops of 5 N nitric acid, 3 drops of 30 per cent (v/v) acetic acid and about 0.8 g of solid zinc oxide. Heat the mixture almost to boiling and then allow to cool for 20–30 minutes with occasional swirling (about every 5 minutes). Cool in running water for a few minutes. Filter off the zinc oxide and phosphate (or sulphide) on a paper pulp pad of about 1 cm thickness. Rinse the beaker with five 3—4-ml portions of hot water, transferring most of the remaining zinc oxide to the filter. Rinse the filter and precipitate with five 2—3-ml portions of hot water, allowing the filter to drain between all additions.

c) *Precipitation of lead chlorofluoride:* The volume of the solution from the above treatments must not exceed 80 ml and should preferably be less. Heat the solution almost to boiling and add 1 ml of 30% (v/v) acetic acid solution. Add 50 ml of hot lead chloronitrate solution in a slow stream with continuous stirring until the precipitate comes down. Cover the beaker and heat just to gentle boiling. Allow to cool overnight.

Filter through a weighed No. 4 sintered glass crucible and transfer the precipitate with a saturated solution of lead chlorofluoride. Wash the precipitate with two 10-ml portions of lead chlorofluoride solution and two 10-ml portions of acetone. Dry at 110° C for 30 minutes and weigh after cooling for 30 minutes.

Weight of fluorine = weight of precipitate $\times$ 0.07263.

We express our thanks to Dr. *W. K. R. Musgrave* of the University of Durham, and Mr. *T. R. F. W. Fennell* for providing several of the phosphorus compounds. One of us (A. M. G. M.) thanks British Drug Houses Ltd. for the grant which made the present investigation possible.

Summary

A new semi-micro method for the determination of fluorine in organic compounds is described. The compound is fused with alkali metal in a nickel bomb in the usual way[1] but the fluoride is finally determined gravimetrically after precipitation as lead chlorofluoride by a simplified method in which a solution of lead chloronitrate is used as precipitant. The method is applicable without modification to compounds containing halogens and nitrogen. A procedure is given for the separation of phosphate and sulphide by means of zinc oxide. The whole procedure is very suitable for routine work.

Zusammenfassung

Eine neue halbmikroanalytische Methode zur Bestimmung von Fluor in organischen Substanzen wird beschrieben. Die Probe wird in üblicher Weise[1] mit Alkalimetall in einer Nickelbombe geschmolzen, das Fluor dann aber als Bleichlorfluorid nach einem vereinfachten Verfahren mit einer Lösung von Bleichlornitrat gefällt und schließlich gewogen. Die Methode ist ohne Abänderung auf halogen- und stickstoffhaltige Substanzen anwendbar. Zur Abtrennung von Phosphat und Sulfid wird ein Verfahren mit Zinkoxyd angegeben. Die beschriebene Methode eignet sich sehr gut für Routine-Analysen.

Résumé

Description d'une nouvelle semi-micro méthode de dosage du fluor dans les composés organiques. Le composé est attaqué par un métal alcalin dans une bombe de nickel, de la manière habituelle, mais le fluor est finalement dosé par gravimétrie après précipitation sous forme de chlorofluorure de plomb, par une méthode simplifiée dans laquelle on emploie une solution de chloronitrate de plomb comme réactif précipitant. La méthode est applicable sans modification aux composés contenant des halogènes et de l'azote. Les auteurs décrivent une technique de séparation des phosphates et des sulfures à l'aide de l'oxyde de zinc. La méthode globale convient aux travaux de dosages en série.

References

[1] *R. Belcher* and *J. C. Tatlow*, Analyst **76**, 593 (1951).

[2] *R. Belcher, E. F. Caldas, S. J. Clark* and *A. M. G. Macdonald*, Mikrochim. Acta [Wien] **1953**, 283.

[3] *W. D. Harkins*, J. Amer. Chem. Soc. **33**, 1818 (1911).

[4] *H. V. Armstrong* and *J. V. Eyre*, Proc. Roy. Soc. London **88 A**, 234 (1913).

[5] *J. Fischer* and *H. Peisker*, Z. analyt. Chem. **95**, 225 (1933).

[6] *P. E. Winkler*, Bull. soc. chim. Belge **47**, 1 (1938).

[7] *R. Belcher, E. F. Caldas* and *S. J. Clark*, Analyst **77**, 602 (1952).

[8] *J. I. Hoffman* and *G. E. F. Lundell*, Bur. Standards J. Research **3**, 581 (1929).

[9] *J. H. Saylor, C. H. Deal, M. E. Larkin, M. E. Taverner* and *W. C. Vosburgh*, Analyt. Chim. Acta **5**, 157 (1951).

[10] *A. I. Vogel*, Quantitative Inorganic Analysis. London: Longmans, Green & Co. 1939.

[11] *D. S. Reynolds* and *K. D. Jacob*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **3**, 366 (1931).

[12] *T. R. F. W. Fennell*, Chem. and Ind. **1955**, 1404.

[13] *G. Chancel*, C. r. acad. sci., Paris **49**, 997 (1859).

[14] *R. Belcher* and *A. M. G. Macdonald*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 899.

Aus der 1. Universitäts-Augenklinik Wien und der Augenabteilung des Paracelsus-Institutes Bad Hall, O.-Ö.

Vergleichende mikrochemische Untersuchungen des Jodgehaltes von Serum und Tränenflüssigkeit*

Von

A. Pillat, F. Trichtel und **M. Oberhummer**

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 20. Februar 1957)

Schon wiederholt wurde die Tränenflüssigkeit auf ihre Bestandteile untersucht. Chemische Bestimmungen sind aber in Anbetracht der geringen zur Verfügung stehenden Mengen und der dadurch erforderlichen hohen Empfindlichkeit der Methode sehr schwierig. So wurden bisher von den anorganischen Bestandteilen lediglich Kalium, Natrium und Chlor quantitativ bestimmt[1, 5, 9, 10, 12, 13].

Aus Gründen der therapeutischen Anwendung von Jod in der Augenheilkunde war es interessant, den Jodgehalt der Tränenflüssigkeit sowie seine Abhängigkeit vom Blutjodspiegel zu untersuchen. Die Beantwortung dieser Fragen stellte uns vor folgende Probleme:

1. Gewinnung ausreichenden Untersuchungsmaterials.
2. Exakte quantitative Bestimmung geringer Jodmengen.

Von *Schirmer*[14], *Carta*[2] und *Nover*[11] wurde die *Gewinnung der Tränenflüssigkeit* durch Einlegen von Filterpapierstreifen in den Conjunctivalsack beschrieben. Obwohl wir mit dieser Methode genügend Tränenflüssigkeit gewinnen konnten, erschien uns eine exakte quantitative Erfassung dieser kleinen Mengen trotz Abwägung mittels analytischer Waage durch die rasche Verdunstung und Gewichtsabnahme während des Wägens nicht möglich. Eine Tränengewinnung durch Schleimhautreizung (Eintropfen von Zwiebelsaft[4], destilliertem Wasser in den Bindehautsack[3] sowie durch Einatmen von Tränengas[5], Formaldehyddämpfen[4] und Methylsenföldämpfen[6] wurde ebenfalls bereits angegeben.

* Herrn Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

Am zuverlässigsten und einfachsten erwies sich bei unseren Versuchen das Auflegen eines von in 10% Mentholspiritus getauchten Wattebauschen auf die Wangenhaut, wodurch wir einen starken, eine Zeitlang andauernden Tränenfluß erzielen konnten.

Von den verschiedenen bisher angegebenen *Joddestimmungsmethoden* erwies sich keine als genügend empfindlich. Ein Versuch der Bestimmung mittels radioaktiven Jods wurde wegen der dazu erforderlichen hohen Aktivitätsmengen vermieden. Vorversuche mit geringen Dosen zeigten zu hohe Fehlerquellen, um verwendbar zu sein.

Erst durch eine neue, von *Spitzy* und *Reese*[17] beschriebene mikrochemische Jodbestimmungsmethode war die Möglichkeit zur Erfassung kleinster Mengen bis 0,002 μg gegeben.

Nachdem also die Voraussetzungen zu diesen Bestimmungen geschaffen waren, konnten wir an die Untersuchung folgender Punkte gehen:

1. die Bestimmung des Jodgehaltes der Tränenflüssigkeit und des Blutserums bei Aufenthalt der Untersuchungsperson im jodfreien Milieu;

2. die Bestimmung des Jodgehaltes der Tränenflüssigkeit und des Blutserums bei im Jodmilieu Bad Hall, O.-Ö., lebenden Personen, wo durch Zufuhr bodenständiger Nahrungsmittel, von Trinkwasser sowie durch den hohen Luftjodgehalt (*Lieb*[8]) ein Vielfaches des normalen Jodbedarfes dem Körper täglich zugeführt wird;

3. Vergleich des Jodgehaltes der Tränenflüssigkeit und des Blutserums nach intravenöser Injektion von Natriumjodid.

Technik

Tränengewinnung: Im Selbstversuch provozierten wir durch Auflegen von in 10%igem Mentholspiritus getauchten Wattebauschen auf die vorher mit 1%igem Borvaselin geschützte Wangenhaut einen stärkeren Tränenfluß, so daß wir eine Menge bis zu 0,3 ml innerhalb weniger Minuten abpipettieren konnten.

Blutgewinnung: Ebenfalls im Selbstversuch durch venae punctio mit jodfreier Kanüle und Spritze. Das abgenommene Blut wurde sofort durch 10 Minuten zentrifugiert. Das reine Serum wurde anschließend mittels ebenfalls jodfreier 0,5-ml-Mikropipette aufgezogen.

Jodbestimmung: Die Jodbestimmung nach *Spitzy* und *Reese*[17] besteht im Prinzip darin, daß das Untersuchungsmaterial, in unserem Fall 0,2 ml Tränenflüssigkeit bzw. 0,5 ml Blutserum, durch Chromschwefelsäure verascht und das freiwerdende Jod zu nicht flüchtiger Jodsäure oxydiert wird. Diese wird mit phosphoriger Säure reduziert und anschließend mittels Isothermdiffusion isoliert. Die Endbestimmung erfolgt durch katalytische Wirkung des Jods auf das System Cerisulfat — arsenige Säure.

In Anbetracht der hohen Empfindlichkeit dieser Methode ist die Jodfreiheit aller zur Bestimmung verwendeten Instrumente und Gefäße unbe-

dingte Voraussetzung für richtige Ergebnisse. Zu diesem Zwecke wurden alle Instrumente und Gefäße 15 Minuten in heiße, 5%ige, jodfreie Natronlauge gelegt und anschließend mit Leitungswasser, aqua destillata und aqua bidestillata gründlich gespült. Die Trocknung der verwendeten Geräte erfolgte mittels Philips-Hartstrahlern, da uns kein absolut jodfreier Brutschrank zur Verfügung stand und wir auf diese Weise jede Verunreinigung vermeiden konnten.

Untersuchungen

Die Tränen- und Blutjodbestimmungen bei Aufenthalt im Jodmilieu Bad Hall sowie nach intravenöser NaJ-Injektion wurden an einer männlichen 31jährigen sowie an einer weiblichen 30jährigen Versuchsperson durchgeführt (Selbstversuch).

Zu den Bestimmungen bei Aufenthalt in jodfreiem Milieu standen uns ein 68jähriger und 35jähriger Mann aus Leoben (Steiermark) bzw. Wien zur Verfügung.

Es wurden stets jeweils 0,5 ml Serum bzw. 0,2 ml Tränenflüssigkeit zu den Untersuchungen verwendet. Insgesamt wurden 420 Einzelbestimmungen durchgeführt, wobei das arithmetische Mittel aus mindestens zwei Parallelbestimmungen in unseren Tabellen angeführt wird. Bei sauberem Arbeiten war es uns möglich, die Fehlerbreite bei $\pm$ 10% zu halten.

Jeder Versuch wurde in den Tabellen gesondert angeführt, da die Werte bei den einzelnen Personen sehr verschieden waren und sich von Tageszeit, Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme abhängig erwiesen.

Ergebnis der Untersuchungen

Tabelle 1: Bei in jodfreiem Milieu lebenden Personen wurde ein Serumjodgehalt von 3,2 bis 4,4 μg% gefunden, während in der Tränenflüssigkeit bei gleichen Bedingungen keine erfaßbaren Jodmengen vorlagen. Der normale Serumjodspiegel wird von *Schittenhelm* und *Bauer*[15] mit 30 μg% sowie von *Klein*[7], *Spitzy* und *Lieb*[16] zwischen 4 und 10 μg% angegeben.

Tabelle 1. Serum- und Tränenjodgehalt ohne therapeutische Jodzufuhr

Bei Aufenthalt in jodfreiem Milieu (Wien, Leoben):

Serum:	3,2	3,2	4,0	4,4	4,6 μg%
Tränen:	0	0	0	0	0 μg%

Bei Aufenthalt in Bad Hall, Oberösterreich:

Serum:	7,8	8,0	11,0	9,3	11,0 μg%
Tränen:	5,5	5,6	7,0	6,5	7,5 μg%

Bei Aufenthalt der Versuchsperson im jodreichen Milieu von Bad Hall, Oberösterreich, betrug der Serumjodgehalt durchschnittlich 7,8 bis 11 μg %. Auch in der Tränenflüssigkeit konnten Werte von 5,5 bis 7,5 μg% festgestellt werden.

Die *Tabelle 2* zeigt den Serum- und Tränenjodgehalt nach intravenöser Injektion von 2 ml einer 2%igen NaJ-Lösung, entsprechend 33,9 mg Jod als NaJ zu verschiedenen Zeiten nach der Verabreichung. Jede senkrechte Spalte entspricht einer Versuchsreihe nach einmaliger Injektion bei der-

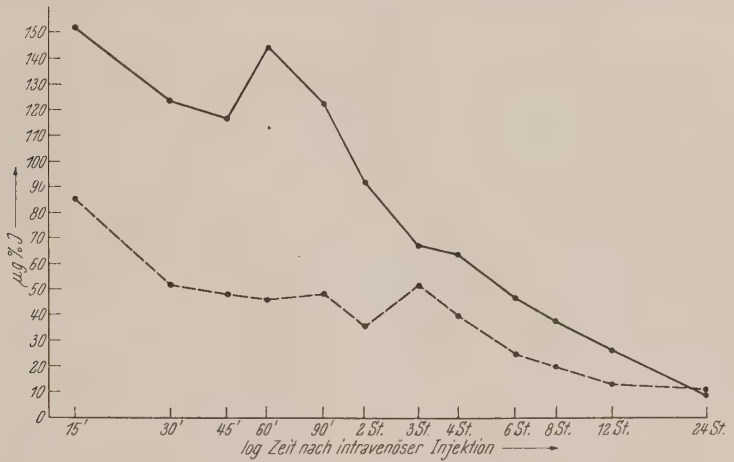


Abb. 1. Tränenjodgehalt von Serum ———— und Tränenflüssigkeit – – – – – zu verschiedenen Zeiten nach intravenöser Injektion von 33,9 mg Jod als NaJ

selben Versuchsperson. Jede waagrechte Reihe zeigt die jeweils zur selben Zeit nach der intravenösen Injektion, jedoch bei verschiedenen Untersuchungspersonen und Tageszeiten vorgefundenen Werte. Zum besseren Vergleich dieser Zahlen dient Abb. 1, die den kurvenmäßigen Verlauf der in Tabelle 2 wiedergegebenen Verhältnisse zeigt, wobei das arithmetische Mittel der zur selben Zeit nach der Injektion gefundenen Werte aufgezeichnet ist.

Der höchste Jodgehalt des Blutserums von 100 bis 240 μg% und der Tränenflüssigkeit von 60 bis 109 μg% wurde zu Beginn unserer Untersuchungen 15 Minuten nach intravenöser Injektion festgestellt. Der Blutserumjodgehalt zeigt bis zur 45. Minute einen Abfall auf 91 bis 212 μg%, worauf ein bei allen Versuchen festgestellter Wiederanstieg nach 60 Minuten von 93 bis 264 μg% erfolgt. Erst ab dieser Zeit war der Abfall annähernd gleichmäßig. Nach 24 Stunden wurde der normale Blutjodgehalt mit 7 bis 12 μg% wieder erreicht. Da der *Wiederanstieg* des Serumjodgehaltes zwischen der 1. und 2. Stunde nach intravenöser Injektion von

Tabelle 2. Serum- und Tränenjodgehalt in μg% zu verschiedenen Zeiten nach intravenöser Injektion von 33,9 mg J als NaJ

Die vertikalen Reihen entsprechen einem Versuch bei jeweils der gleichen Versuchsperson

	Serum								Tränen		
								Mittelwert			Mittelwert
15 Minuten	115 101 100	146 146	150	148 142	148	240 239	151 152	152	109 105 98	70 68 60	85
30 Minuten	110 102	120 131	99 96 81	131 121 111	149	239	—	124	76 40	40	52
45 Minuten	96 101 91	126 115 101	102	112 120	—	212	—	117	48 52	47	49
60 Minuten	140 142	126 120	112	131 129 93	194	264	—	145	50 55	33	46
90 Minuten	95 86	198 190 135	77 76 66	140 132	182	176	87 86	123	50 41	60 47	49
2 Stunden	76 72	140 121	49 47 44	76 61	194	139	—	92	27	31 43 45	36
3 Stunden	63 52	63 63	52	68	63	—	94 89	67	71 57 55	33 47	52
4 Stunden	58 53	68 61	45 32 32	67 62 61	69	109	87 81 74	64	54	37 36 32	40
6 Stunden	63 53	51 39 38	38	—	—	—	—	47	27	24	25
8 Stunden	31 39	21	36 36 30	21 15 15	94	84	—	38	23	19	21
12 Stunden	34	—	30	22	—	—	—	28	12	10	11
24 Stunden	7	12	8	—	9	9	—	9	12	10	11

NaJ bei allen Versuchen festgestellt wurde und die einzelnen Werte durch Parallelbestimmungen gestützt sind, verdient er sicherlich Beachtung.

Ähnliche Verhältnisse wurden bereits bei Untersuchungen des Jodgehaltes der Augengewebe und des Serums in ihrer zeitlichen Abhängigkeit von der intravenösen Jodapplikation beim Kaninchen gefunden[18].

Der Tränenjodgehalt beträgt während der ganzen Untersuchungszeit annähernd die Hälfte des Serumjodgehaltes. Entsprechend dem Serum zeigt sich auch hier ein deutlicher Wiederanstieg des Jodgehaltes, jedoch durchschnittlich erst 1 Stunde später.

Diskussion

Im Gegensatz zu den höheren Werten von *Schittenhelm* und *Bauer*[15] liegen unsere Ergebnisse des normalen Serumjodspiegels innerhalb der von *Klein*[7] sowie *Spitzy* und *Lieb*[16] angegebenen Grenzen. Untersuchungen über den Tränenjodgehalt sind uns nicht bekannt und können daher nicht zum Vergleich herangezogen werden.

Interessant zeigte sich ein bei allen Versuchen festgestellter Wiederanstieg des Serumjodgehaltes zwischen der 1. und 2., des Tränenjodgehaltes zwischen der 2. und 3. Stunde nach der intravenösen Injektion. Bei Untersuchungen des Jodgehaltes von Serum und Augengeweben bei Kaninchen wurden bereits ähnliche Verhältnisse vorgefunden[18]. Inwieweit der Funktion der Schilddrüse in dieser Hinsicht Bedeutung zukommt, entzieht sich unserer Beurteilung.

Zusammenfassung

Es wurde der Serum- und Tränenjodgehalt beim Menschen untersucht. Bei Aufenthalt der Versuchsperson im jodfreien Milieu wurde ein Serumjodgehalt von 3,2 bis 4,6 μg% festgestellt. In der Tränenflüssigkeit fanden sich unter gleichen Bedingungen keine erfaßbaren Jodmengen. Bei Aufenthalt der Versuchsperson im Jodmilieu von Bad Hall in Oberösterreich konnten im Serum 7,8 bis 11 μg% und in der Tränenflüssigkeit 5,5 bis 7,5 μg% Jod gefunden werden.

Nach intravenöser Injektion von 2 ml einer 2%igen NaJ-Lösung wurde der höchste Serum- und Tränenjodgehalt zu Beginn der Untersuchung, das ist 15 Minuten nach intravenöser Injektion, festgestellt. Es zeigte sich, daß der Jodgehalt der Tränen im Durchschnitt die Hälfte der Serumwerte beträgt und nicht geklärte Schwankungen des letzteren ebenfalls verzögert aufzeigt.

Summary

The iodine content of human sera and tears was studied. When the subject was kept in an iodine-free milieu, the iodine content of the serum was 3.2 to 4.5 μg%. Under these same conditions, no detectable iodine was found in the lachrymatory liquid. The serum contained 7.8 to 11 μg%

and the tear fluid 5 to 7.5 $\mu g\%$ iodine when the subject was kept in the iodine environment of Bad Hall in Upper Austria. When 2 ml of a 2% solution of sodium iodide was injected intravenously, the highest serum- and tear-iodine content was found at the start of the measurement, i. e. 15 minutes after the injection. It was discovered that the iodine content of the tears averaged about one-half of that in the serum, and it likewise exhibits the unexplained delayed variations exhibited by the latter.

Résumé

Recherches sur la teneur en iode du sérum et des larmes humains. Lorsque le sujet d'expérience a séjourné dans un milieu dépourvu d'iode, on a déterminé que la teneur en iode du sérum est de 3,2 à 4,6 $\mu g\%$. Dans les mêmes conditions il n'a pas été possible de mettre en évidence la présence de l'iode dans le liquide des larmes. Lorsque le sujet d'expérience a séjourné dans le milieu iodé de Bad Hall en Autriche, on a pu trouver 7,8 à 11 $\mu g\%$ d'iode dans le sérum et 5,5 à 7,5 $\mu g\%$ dans le liquide des larmes.

Après injection intraveineuse de 2 ml d'une solution d'iodure de sodium à 2% on a établi que la plus haute teneur en iode du sérum et des larmes était atteinte au commencement de l'expérimentation, 15 minutes après l'injection intraveineuse. Il est apparu que la teneur en iode des larmes est en moyenne la moitié de celle du sérum et que cette dernière est sujette à des variations et à des retards d'origine inconnue.

Literatur

[1] *J. Balik*, Ceskosl. Oftalm. **9**, 266 (1953); **11**, 99 (1955).
[2] *R. Carta* und *N. Cadeddu*, Boll. Ocul. **32**, 87 (1953).
[3] *J. Feldmann*, Arch. Ophthalm. **17**, 797 (1937).
[4] *C. Forti*, Boll. soc. ital. biol. sperim. **2**, 145 (1927).
[5] *A. Giardini* und *J. R. E. Roberts*, Brit. J. Ophthalm. **34**, 737 (1950).
[6] *K. Junnole*, Ann. med. exper. biol. fenn. **31**, Suppl. 1 (1953).
[7] *E. Klein*, Biochem. Z. **322**, 388 (1952).
[8] *H. Lieb*, Wr. med. Wschr. **38**, 756 (1952).
[9] *M. Merz*, Biochem. Z. **173**, 154 (1926).
[10] *D. Michail*, Ann. d'Ocul. **173**, 715 (1936).
[11] *A. Nover*, Arch. Augenhk. **156**, 177 (1955).
[12] *F. Ridley*, Trans. Ophthal. Soc. U. K. **50**, 268 (1930).
[13] *A. Rötth*, Klin. Mbl. Augenhk. **68**, 598 (1922).
[14] *N. Schirmer*, Arch. Ophthalm. **56**, 197 (1903).
[15] *A. Schittenhelm* und *T. Bauer*, Z. ges. exp. Medizin **119**, 45 (1952).
[16] *H. Spitzy* und *H. Lieb*, Arch. physik. Therapie **4**, 275 (1952).
[17] *H. Spitzy* und *M. Reese*, mündliche Mitteilung, Publikation in Vorbereitung.
[18] *F. Trichtel*, Arch. Augenhk. **158**, 380 (1957).

Abteilung für Elektronenmikroskopie der Freien Universität Berlin und Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft, Berlin-Dahlem

Versuche zur Ausführung elektronenmikroskopisch auswertbarer Reaktionen*

Von

E. Wiesenberger

Mit 31 Abbildungen

(Eingegangen am 4. März 1957)

Für die Weiterentwicklung analytischer Verfahren bedeutete die Anwendung des Lichtmikroskops zum Beobachten chemischer Erscheinungen einen großen Fortschritt. Das dem menschlichen Auge überlegene Auflösungsvermögen und der verfügbare Vergrößerungsbereich dieses neuen Beobachtungssystems erhöhten die Nachweisbarkeit der betrachteten Reaktionsprodukte, da bei wesentlich verringerten Substanzmengen bisher nicht erkannte Stoffeigenschaften sichtbar wurden. Diese Tatsache in Verbindung mit der Möglichkeit, die Stoffmengen bis zur Grenze der Leistungsfähigkeit des Lichtmikroskops zu verkleinern, war für die Ausgestaltung der Ausführungsweise mikroanalytischer Reaktionen und damit für die Ausnutzung der Nachweisempfindlichkeit bestimmend.

Für die Güte eines Nachweises ist neben dem sicheren Erkennen des Reaktionsproduktes stets die kleinste noch erfaßbare Stoffmenge ausschlaggebend. Diese ist einerseits durch das jeweilige Beobachtungssystem bestimmt und anderseits von der Ausführungsform der chemischen Umsetzung abhängig. Für die Beobachtung von Kristallfällungen oder Niederschlägen anderer Art hat man die beste Ausführungsform dann gefunden, wenn sich das Reaktionsprodukt in seiner Gesamtheit übersehen läßt. Außerdem wird das Verfahren um so empfindlicher sein, je besser es gelingt, das Reaktionsprodukt auf kleinster Fläche zu erzeugen oder zu sammeln. Dies ist besonders dann wichtig, wenn die Größe der zu identifizierenden Niederschlagsteilchen gerade dem Auflösungsvermögen des Beobachtungssystems entspricht. Ein

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

sicherer Nachweis ist in solchen Fällen nur möglich, wenn die Einzelteilchen des Reaktionsproduktes durch dichteste Anhäufung als Gesamtkomplex aus dem Grenzgebiet des Auflösungsbereiches herausgehoben und dadurch deutlich erkennbar gemacht werden.

Das Bestreben, das gesamte Reaktionsprodukt auf möglichst kleinem Raum zu erzeugen, ist daher bei allen empfindlichen mikroskopischen Reaktionsverfahren vorhanden. Schon bei der besonders von *Th. H. Behrens*[1] empfohlenen Verfahrensweise, Kristallfällungen als kennzeichnenden Nachweis von Stoffen zu verwenden, entwickelt sich das kristallisierende Umsetzungsprodukt unmittelbar um ein Körnchen des in den Tropfen der Probelösung eingebrachten Reagens herum.

Ein Beispiel für das Sammeln der Niederschläge auf kleinstem Raum ist das Arbeiten in Kapillaren[2]. Dabei werden die gefällten Niederschläge zur besseren Sichtbarmachung vielfach in die ausgezogene Kapillarspitze zentrifugiert. Eine höchstverfeinerte Form dieser Arbeitsweise wurde von *Benedetti-Pichler*[3] im Kapillarspitzröhrchen entwickelt. Nach diesem Verfahren, welches das Arbeiten mit Flüssigkeitsmengen von 0,001 bis 0,01 μl gestattet, konnten auch Trennungen bei gleichzeitiger Schätzung des vorliegenden Mengenverhältnisses der getrennten Metalle durchgeführt werden. Für die erstaunliche Leistungsfähigkeit des Verfahrens spricht unter anderem die Trennung von 0,008 μg Wismut von 0,08 μg Antimon.

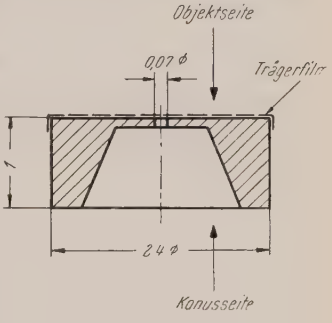
Einen anderen Weg für die Anreicherung des Reaktionsproduktes auf engstem Raum weist *F. Emich*[4] in den von ihm eingeführten, äußerst empfindlichen Reaktionen auf Gespinstfasern. Nach dieser Methode werden Niederschläge oder Färbungen an der Spitze einzelner Fasern erzeugt und unter dem Mikroskop identifiziert.

In idealer Weise eignet sich der elektrische Strom für das Abscheiden von Stoffen auf kleinsten Reaktionsflächen. Nach dem von *F. Emich* angeregten und von *H. J. Brenneis*[5] ausgearbeiteten Verfahren werden Metalle elektrolytisch auf den in Glas eingebetteten Querschnittflächen von Platindrähten abgeschieden. Hierbei wurden bisher als kleinste Elektroden die Querschnittflächen eines 0,025 mm starken Platindrahtes im Ausmaß von $\sim$ 0,0005 mm^2 verwendet.

Die vorstehenden Beispiele zeigen einige Möglichkeiten, wie durch die geeignete Ausführung einer Reaktion ihre Nachweisempfindlichkeit ausgenutzt und dadurch die Erfassungsgrenze des nachzuweisenden Stoffes herabgesetzt werden kann.

Einen wesentlichen Fortschritt im Sinne einer Ausnutzung der Reaktionsempfindlichkeit versprach der Übergang vom Lichtmikroskop zum weit besser auflösenden und stärker vergrößernden Elektronenmikroskop. Versucht man, Reaktionsprodukte im Elektronenmikroskop zu prüfen und die Reaktion nach den vorgenannten Gesichtspunkten auszuführen, so ergeben sich in präparativer Hinsicht völlig anders geartete

Bedingungen. Vor allem muß das Verhalten der Elektronen zur Materie berücksichtigt werden, was für die Elektronenmikroskopie oft eine beträchtliche Einengung der in der Lichtmikroskopie gegebenen Manipulations- und Beobachtungsmöglichkeiten bedeutet. Daher können die für die Lichtmikroskopie geeigneten Verfahren nicht direkt in die Elektronenmikroskopie übernommen werden. Viele Methoden scheiden von vornherein als nicht anwendbar aus und die verwendbaren müssen meist erst stark modifiziert werden, bis alle Voraussetzungen für eine sinnvolle, mit dem Lichtmikroskop vergleichbare, elektronenmikroskopische Prüfung geschaffen sind. So verhält es sich auch bei der hier zu untersuchenden Frage der elektronenmikroskopischen Auswertung von Reaktionen und der Betrachtung ihrer Umsetzungsprodukte. Zum Verständnis der bei den einschlägigen Versuchen durchgeführten präparativen Maßnahmen sollen zunächst die licht- und die elektronenmikroskopischen Versuchsbedingungen einander gegenübergestellt werden.



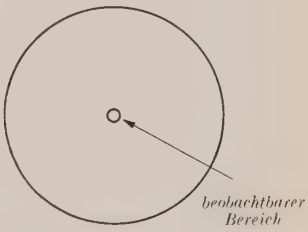


Abb. 1
Ansicht der Objektträgerblende

Ein wesentlicher Unterschied besteht bereits im Aufbringen der Präparate. In der Lichtmikroskopie werden hierzu gewöhnlich Glasplättchen (etwa 76·25·1 mm) verwendet. Auf ihnen lassen sich die mannigfaltigsten Arbeiten durchführen. Im Elektronenmikroskop können dagegen wegen des geringen Durchdringungsvermögens der Elektronen nur sehr dünne, etwa 50 bis 250 Å starke Filme als Objektunterlage benutzt werden. Diese bedürfen zu ihrer Handhabung einer festen Unterlage und müssen deshalb auf Metallnetze oder auf die in Abb. 1 dargestellten, sog. Objektträgerblenden aufgespannt werden. Wie aus der Skizze ersichtlich ist, bestehen diese aus zylinderförmigen, in der Mitte mit einer oder mehreren Bohrungen versehenen Scheibchen. Der aus einer Platin-Iridiumlegierung gefertigte Blendenkörper läßt sich auf einfache Weise auf seiner glatten Oberseite (Objektseite) mit dem Film überspannen. Auf diesen bringt man das Objekt je nach seiner Beschaffenheit so auf, daß die ganze filmbespannte Oberfläche der Objektträgerblende mit dem zu prüfenden Präparat belegt ist. Zur Beobachtung gelangen jedoch nur die Objektbereiche, die auf den durch die Blendenbohrungen begrenzten, kreisförmigen Filmflächen liegen. Bei einem Bohrungsdurchmesser von 0,07 mm entspricht der über dieser Bohrung befindliche Filmbereich

rund 0,004 mm². Da eine Objektträgerblende meistens mehrere Bohrungslöcher enthält und diese sämtlich in den Strahlengang einfahrbar sind, richtet sich die beobachtbare Gesamtfläche nach der Anzahl der Bohrungen. Bei der maximalen Zahl von neunzehn Bohrungen steht eine durchstrahlbare Filmfläche von 0,072 mm², das heißt etwa 1,5% der gesamten Blendenoberfläche, für die Objektbeobachtung zur Verfügung.

Beim Lichtmikroskop ist der abfahrbare Objektbereich unvergleichlich viel größer und beträgt mindestens 10 cm².

Der Vergleich der in beiden Fällen verfügbaren Objektbereiche läßt bereits erkennen, daß sich die auf dem Glasobjektträger des Lichtmikroskops durchführbaren Manipulationen nur mit äußerster Beschränkung auf die kleinen Objektträgerblenden der Elektronenmikroskopie übertragen lassen. Zur Behinderung in der Manipulationsfreiheit durch die beengende Oberfläche der Blenden kommt noch die überaus große Empfindlichkeit der äußerst dünnen Trägerfilme gegen mechanische, thermische und chemische Beanspruchungen.

Ein wesentlicher Unterschied zwischen Licht- und Elektronenmikroskopie liegt in der Beobachtung der Objekte. Die elektronenmikroskopisch zu prüfenden Präparate befinden sich unter Hochvakuum in der Mikroskopröhre und sind daher während des Mikroskopierens von außen nicht zugänglich. Außerdem läßt das in der Mikroskopröhre herrschende Vakuum nur die Untersuchung trockener Objekte zu. Sieht man von Umwandlungen durch die Einwirkung des Elektronenstrahles, durch Erhitzen des Objekts oder durch Reaktionen mit dem Trägerfilm oder den im Rohr befindlichen Restgasen ab, so wird stets nur ein bestimmter Objektzustand beobachtet.

Die lichtmikroskopische Beobachtung ist nicht an diese einengenden Bedingungen gebunden. Die Objekte werden in der freien Atmosphäre untersucht und können daher in jeder beliebigen Form, in festem oder flüssigem Medium, vorliegen. Da die Präparate außerdem während der Beobachtung von außen zugänglich sind, besteht jederzeit die Möglichkeit, Manipulationen unter dem Mikroskop durchzuführen. Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung ist man auch an keinen bestimmten Zustand des Objekts gebunden, so daß in Entwicklung befindliche Vorgänge beobachtet werden können.

Bezüglich der Beschaffenheit des Objekts sind die Anforderungen in der Elektronenmikroskopie wesentlich höher als in der Lichtmikroskopie. Für die elektronenoptische Durchstrahlungsabbildung dürfen die Objekte wegen der schwachen Durchdringungsfähigkeit der Elektronen nur eine sehr geringe Dicke haben, die je nach dem zu untersuchenden Stoff verschieden ist.

Nach dieser vergleichenden Gegenüberstellung einiger unterscheidender Merkmale des lichtoptischen und des elektronenoptischen Beobachtungssystems sollen nun die Bedingungen für eine sinngemäße elektronenoptische Untersuchung von Reaktionsprodukten geprüft werden.

Die Ausführung von Fällungsreaktionen auf der Objektträgerblende

Auf einer Objektträgerblende soll eine Reaktion so ausgeführt werden, daß das gesamte Umsetzungsprodukt ausschließlich auf der beobachtbaren Filmfläche entsteht. Die Verwirklichung eines solchen für die Elektronenmikroskopie auswertbaren Fällungsprinzips müßte im Endeffekt mit der Ausführungsweise lichtmikroskopischer Reaktionen zu vergleichen sein.

Prüft man nun die verfügbaren mikroanalytischen Nachweisprinzipien auf ihre elektronenmikroskopische Verwendbarkeit, so bieten die elektrolytischen Reaktionen für das Abscheiden von Niederschlägen auf kleinsten Flächen die meisten Erfolgsaussichten. In einer früheren Arbeit[6] wurde daher versucht, das von *Brenneis* für die lichtmikroskopische Beobachtung ausgearbeitete elektrolytische Verfahren in die elektronenmikroskopische Präparation zu übertragen. Es gelang, Elektrolysen auf der Objektträgerblende so auszuführen, daß die beobachtbare Filmfläche allein als Kathode zur Wirkung kam. Dazu wurde die elektrisch gut leitende Blendenoberfläche mit einer Lackschicht isoliert, so daß die elektrolytisch fällbaren Metallionen gezwungen waren, sich direkt auf der Filmfläche zu entladen und abzuscheiden. So war die Forderung, die Gesamtmenge des Reaktionsproduktes elektronenoptisch beobachten zu können, in geradezu idealer Weise erfüllt. Als Beispiele der elektrolytischen Abscheidung von Metallen sind in Abb. 2 bis 7 die Fällungen von Silber, Kupfer, Quecksilber, Gold und Platin dargestellt. Die Empfindlichkeit des Verfahrens läßt sich durch Verkleinern der Elektrodenfläche noch weiter ausnutzen. Man erreicht dies dadurch, daß man auch das Randgebiet des durchstrahlbaren Films mit einer dickeren Collodiumschicht überzieht, damit nicht nur die massive Blendenoberfläche, sondern auch ein Teil der über der Bohrung frei schwebenden Filmfläche abgedeckt ist. Nur der winzige nicht lackierte Teil der Oberfläche ist dann als Elektrode wirksam. Bei den Versuchen der Abb. 8 und 9 ist die Verkleinerung der Elektrodenfläche in besonders eindrucksvoller Weise gelungen. Mit einem Flächeninhalt von 0,0003 bis 0,0004 mm^2 wurden hier die bisher kleinsten Kathodenflächen erzielt. Die beiden Abbildungen zeigen, daß während einer Elektrolyse ein Angriff auf die Platinanode stattfindet, wobei sich das in geringer Menge abgelöste Platin auf den Elektrodenflächen abscheidet.

Bei den elektrolytischen Reaktionen ist die Abscheidung des Niederschlages auf eine vorgesehene Fläche leicht zu erreichen, weil die zu fällenden Ionen unter dem Einfluß der angelegten Spannung in einer bestimmbaren Richtung wandern. Die Umsetzungsprodukte anderer Reaktionen scheiden sich hingegen in Ermangelung einer solchen richtungweisenden Kraft nicht an einer bevorzugten Stelle in dem vorgegebenen Milieu ab. Dazu wären Maßnahmen zur lokalisierten Sammlung von

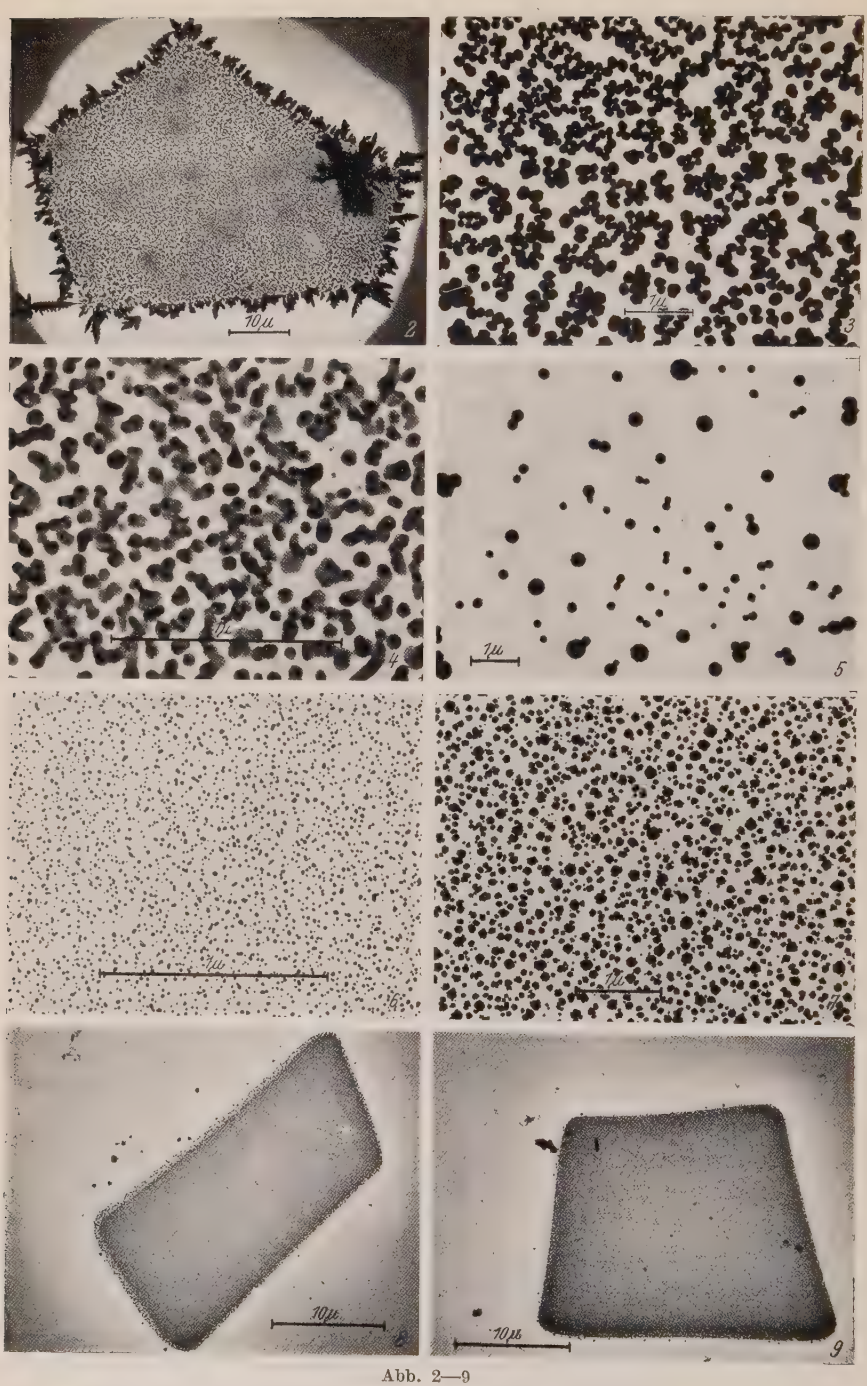


Abb. 2—9

Niederschlägen, wie sie eingangs an einigen mikroanalytischen Beispielen erläutert wurden, nötig. Solche Manipulationen sind jedoch auf den Objektträgerblenden selbst nicht durchführbar. Es bleibt daher nur der Versuch, die in den Eigenschaften des Trägerfilms und die in der Konstruktion der Präparatblende liegenden Möglichkeiten auf das angestrebte Ziel hin auszunutzen.

In diesem Zusammenhang interessiert die durch die Elektronenbestrahlung hervorgerufene Veränderung organischer Stoffe. Sie zeigt sich z. B., wie *H. Ruska*[7] feststellte, an einer Beeinflussung der Löslichkeit oder, wie *B. v. Borries* und *W. Glaser*[8] nachwiesen, an einer wesentlichen Erhöhung der Temperaturbeständigkeit. Nach den Untersuchungen von *H. König* und Mitarbeitern[9] sind diese Erscheinungen auf die ionisierende Wirkung der Elektronen zurückzuführen. Sie verursacht einen formbeständigen Abbau der organischen Substanz, der schließlich bis zum Kohlenstoff führt. Läßt man einen Collodiumfilm sich in dieser Weise verändern, so wird er für Lösungen durchlässig. Diese wertvolle Eigenschaft ist für das Erzeugen eines Niederschlages auf dem durchstrahlten Filmausschnitt ausnutzbar.

In Anlehnung an den bekannten Versuch zur Demonstration des osmotischen Druckes läßt sich bei einer mit einem durchlässigen Film bespannten Präparatblende ein Reaktionsprodukt direkt auf dem Trägerfilm herstellen. Beim Osmoseversuch wird eine halbdurchlässige Membran dadurch erzeugt, daß man eine mit Kaliumcyanoferrat(II)lösung gefüllte, poröse Tonzelle in eine Kupfersulfatlösung stellt. Die beiden Lösungen diffundieren durch die Tonzellenwand und bilden beim Zusammentreffen die aus Kupfercyanoferrat(II) bestehende Membran. Das gleiche Prinzip

Abb. 2. Gesamtansicht einer innerhalb des Trägerfilms hergestellten verkleinerten Kathodenfläche mit einem Flächeninhalt von 0,002 mm². Elektrolytisch abgeschiedenes Silber. Elektronischer Abbildungs-Maßstab (M_{el}) 870 : 1

Abb. 3. Bildausschnitt aus Abb. 2. $M_{el} = 8900 : 1$

Abb. 4. Elektrolytisch gefällte Kupferteilchen, die durch Elektronenbestrahlung geschmolzen wurden $M_{el} = 30\,400 : 1$

Abb. 5. Quecksilbertröpfchen, die durch Elektrolyse aus einer Quecksilberchloridlösung auf den Trägerfilm abgeschieden wurden. $M_{el} = 6500 : 1$

Abb. 6. Goldteilchen, bei einer Stromeinwirkungsdauer von $^1/_{100}$ sec. elektrolytisch gefällt. $M_{el} = 15\,000 : 1$

Abb. 7. Platin, durch Elektrolyse einer schwefelsauren Lösung von Platinichlorwasserstoffsäure gefällt. $M_{el} = 7300 : 1$

Abb. 8 u. 9. Gesamtansicht einer innerhalb des Trägerfilms hergestellten verkleinerten Kathodenfläche. Beobachtbare Gesamtfläche 0,004 mm². Wirksame Elektrodenfläche 0,0003 bis 0,0004 mm². Elektrolytisch niedergeschlagenes Platin. $M_{el} = 1500 : 1$

wurde nun dem Versuch zugrunde gelegt, einen Niederschlag auf dem durch die Blendenbohrung begrenzten Filmausschnitt zu erreichen.*

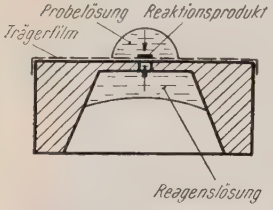


Abb. 10. Mit Probe- und Reagenslösung beschickte Objektträgerblende

Abb. 10 zeigt die Wirkungsweise und Durchführung dieses Reaktionsprinzips. Eine befilmte Präparatblende wird von der Konusseite her mit einem Tröpfchen der Reagenslösung gefüllt. Auf der anderen Seite der Blende wird ein Tröpfchen der Probelösung aufgetragen. Beide Lösungen berühren den Film an entgegengesetzten Seiten über der Blendenbohrung. Die zuerst eingetragene Reagenslösung durchdringt den Film innerhalb des durch die Blendenbohrung begrenzten Flächenstückes und reagiert an dieser Stelle mit dem danach aufgebrachten Tröpfchen der Probelösung. Da den Lösungen an keiner anderen Stelle des Trägerfilms eine Gelegenheit zur Reaktion geboten wird, scheidet sich das gesamte Reaktionsprodukt gerade auf dem der Beobachtung zugänglichen Flächenstück ab. Wie man bei diesem Verfahren im einzelnen vorgeht, wird nachstehend beschrieben.

Abb. 11. Pipettenspitze zum Dosieren des Tropfens beim Befilmen

Vorbereitung der Objektträgerblenden

Für die Versuche wurden vorerst Blenden mit nur einer Bohrung von 0,07 mm verwendet. Sie haben gegenüber den mehrfach gebohrten Präparatblenden den Vorteil der leichteren Reproduzierbarkeit der Versuchsbedingungen und eignen sich daher besser für die Erprobung des Verfahrens.

Wie bereits erwähnt, ist für eine nach dem vorgenannten Prinzip durchzuführende Reaktion eine für Lösungen durchlässige Trägerfolie erforderlich. Zu ihrer Herstellung wird zunächst auf eine größere Anzahl von Präparatblenden ein Collodiumfilm aufgebracht. Nach den bisherigen Erfahrungen eignet sich für diesen Zweck das von der Firma Wolff & Co. in Walsrode hergestellte Collodium E 950 besonders gut. Abgesehen von seiner hervorragenden Reinheit, zeichnet sich das Produkt durch eine große Widerstandsfähigkeit aus. Bevor man die zum Befilmen benötigte Collodiumlösung herstellen kann, muß die Collodiumwolle, die zum Aufbewahren normalerweise mit Alkohol durchfeuchtet ist, etwa

* Die ersten Versuche hiezu wurden im Frühjahr 1956 im Wernerwerk für Meßtechnik der Siemens & Halske A. G. mit der freundlichen Unterstützung des Herrn Dr. Ing. *Otto Wolff* durchgeführt.

24 Stunden im Trockenschrank bei 50° C trocknen. Darauf wird 1 g Collodium in 100 ml Butylacetat gelöst. Die Dicke des aus dieser Lösung herstellbaren Films ergibt sich aus dem Durchmesser des Befilmungsgefäßes und aus den Abmessungen der zur Dosierung der Collodiumlösung verwendeten Pipette. Bei einem Gefäßdurchmesser von 7 cm und einer in Abb. 11 gezeichneten Pipettenspitze kann die bei diesen Versuchen angewandte Filmdicke mit genügender Genauigkeit reproduziert werden.

Die so gewonnenen Collodiumfilme sind aber in diesem Zustand für den vorgesehenen Zweck noch nicht verwendbar, weil sie so wenig durchlässig sind, daß sich erst nach sehr langen Reaktionszeiten die ersten Spuren eines Umsetzungsproduktes zeigen. Um eine brauchbare Durchlässigkeit zu erhalten, müssen die Collodiumfilme durch eine intensive Elektronenbestrahlung in Kohlefilme umgewandelt werden. Die befilmten Präparatblenden werden deshalb nach halbstündigem Trocknen bei 50° C im Elektronenmikroskop bestrahlt. Da der Film sehr widerstandsfähig ist, kann diese Bestrahlung möglichst kurz und mit hoher Intensität durchgeführt werden. Die Stromstärke des unfokussierten Strahles wird daher gleich zu Beginn allmählich, aber kontinuierlich auf etwa 55 μA erhöht. Anschließend daran wird der Kondensor langsam bis zur optimalen Fokussierung des Strahles erregt. Auf diese Weise erreicht man in etwa zwei Minuten die Umwandlung des Films. Nach der Bestrahlung wird die Blendenoberfläche mit einem Lacküberzug versehen, damit die Reaktion der beiden Lösungen nur auf der über der Bohrung liegenden Filmfläche stattfindet. Die Lackschicht dichtet die Oberfläche der Blende ab und verhindert, daß die in den Konus gegebene Reagenslösung unter den Film läuft. Die reagierenden Lösungen können so nur durch das durchstrahlbare Filmflächenstück diffundieren, wobei sich das Reaktionsprodukt gerade an der für die Beobachtung vorgesehenen Stelle entwickelt.

Die Ausführung der Reaktion

Damit die Reaktion gelingen kann, muß die Reagenslösung die kapillare Blendenbohrung füllen. Das Einfüllen einer Flüssigkeit in so kleine Bohrungen bereitet jedoch große Schwierigkeiten, weil es nicht möglich ist, den Tropfen so klein zu dosieren, daß er zur Größe der Blendenbohrung im richtigen Verhältnis steht. Da selbst die kleinste erreichbare Tropfengröße über dem Bohrungsdurchmesser liegt, verschließt der aufgebrachte Tropfen die kapillare Blendenbohrung und die zwischen ihm und dem Film befindliche Luft kann nicht entweichen. Nach zahlreichen Versuchen, das Beschicken der Bohrung auf einfachste Weise zu erreichen, hat sich außer einem konischen Ausweiten des Bohrkanals folgende aus Abb. 12 ersichtliche Arbeitsweise als vorteilhaft erwiesen: Etwa 0,1 μl Reagens-

lösung wird mit einem geeignet geformten Glasfaden von 0,1 mm Durchmesser auf die Wandung des Blendenkonus gesetzt. Beim Weiterführen des Tropfens bis zum Bohrungsrand benetzt sich dieser durch die Berührung mit dem Glasfaden und die Lösung fließt an dieser Stelle in die Kapillare. Der eingebrachte Tropfen überquert dabei die Blendenmitte und füllt schließlich den unteren Teil des Konus aus. Wenn das erste Tröpfchen der Reagenslösung eingebracht ist, verlangt die Zugabe aller weiteren keine besondere Sorgfalt. Beim Einführen der Reagenslösung sucht man vor allem nach Kennzeichen, die ein gelungenes Füllen der Blendenbohrung anzeigen. Meistens erkennt man dies an einer Faltenbildung, die der Film nach dem Berühren mit der eingebrachten Lösung aufweist. Ist diese Erscheinung in einzelnen Fällen nicht sichtbar, so deutet dies nicht unbedingt auf eine ungefüllte Bohrung. Einen sicheren Hinweis erhält man erst nach dem Aufbringen der Probelösung. War die Blendenbohrung nur unvollständig mit dem Reagens gefüllt, so werden Luftbläschen auf dem Film sichtbar, die einen direkten Kontakt der beiden Lösungen und damit auch das Eintreten der Reaktion verhindern. Eine derartige Präparatblende ist unbrauchbar.

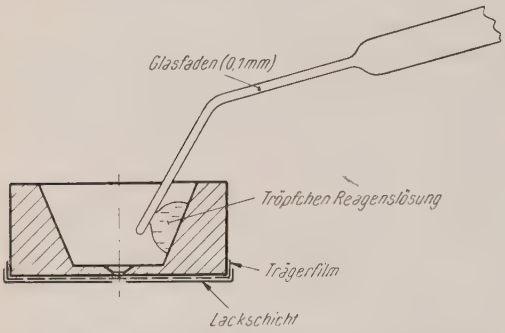


Abb. 12. Einbringen der Reagenslösung in die kapillare Bohrung der Objektträgerblende

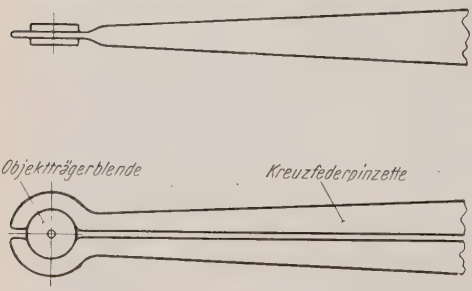


Abb. 13. Spitze einer Kreuzfederpinzette mit eingeklemmter Objektträgerblende

Abb. 14. Bariumchromat, Fällung einer Bariumchloridlösung mit einer Lösung von Kaliumchromat. Gesamtansicht der durchstrahlten Filmfläche. $M_{el} = 815 : 1$

Abb. 15. Bariumchromat, Fällung einer Bariumchloridlösung mit einer Lösung von Kaliumdichromat. Gesamtansicht der durchstrahlten Filmfläche. $M_{el} = 870 : 1$

Abb. 16. Bariumsulfat, Fällung einer Bariumchloridlösung mit 2-n Schwefelsäure. M_{el}: 1450 : 1

Abb. 17. Bariumsulfat, Bildausschnitt aus Abb. 16. $M_{el} = 7900 : 1$

Abb. 18. Calciumoxalat, Fällung einer Calciumchloridlösung mit einer 2%igen ammoniakalischen Lösung von Ammoniumoxalat, Gesamtansicht der durchstrahlten Filmfläche. $M_{el} = 840 : 1$

Abb. 19. Calciumoxalat, Bildausschnitt aus Abb. 18. $M_{el} = 2500 : 1$

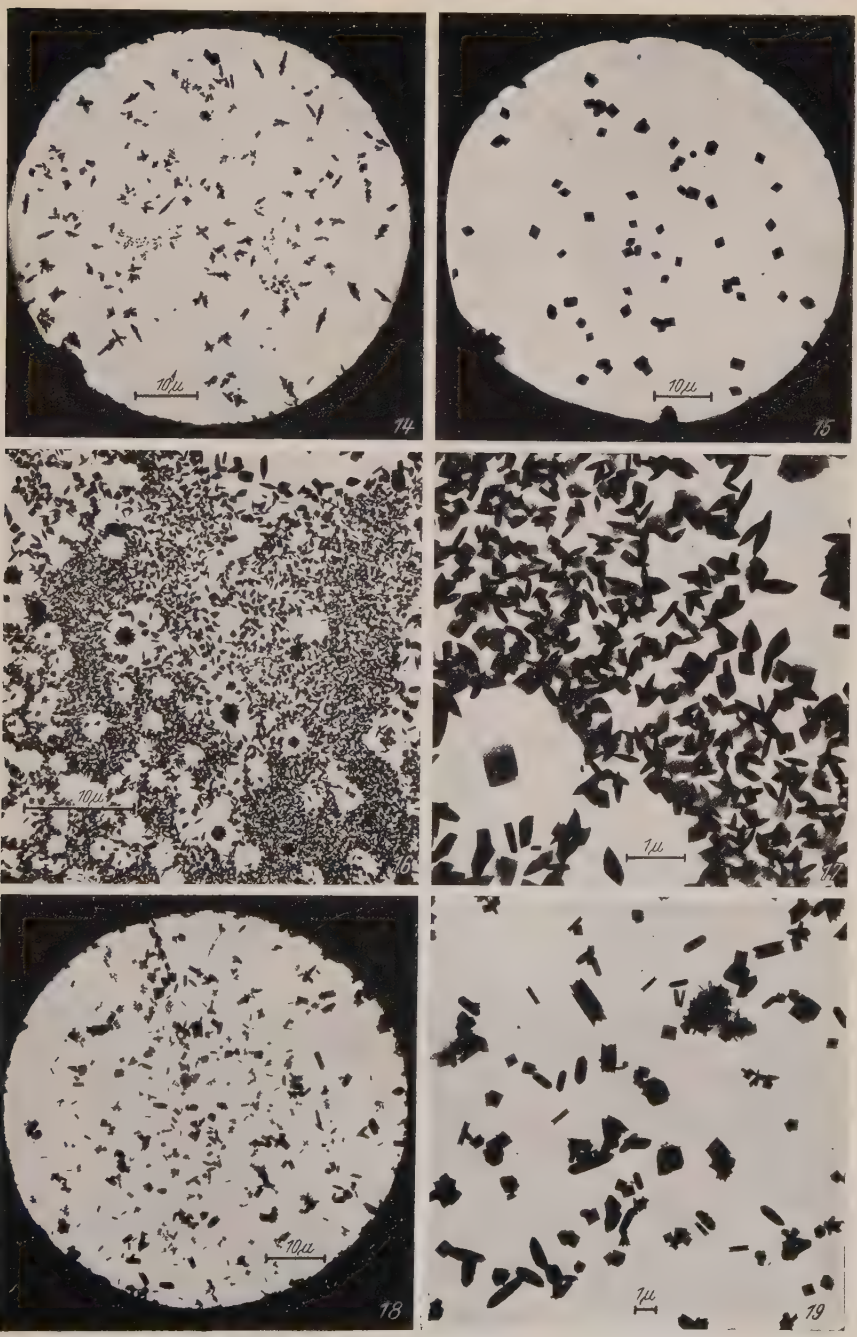


Abb. 14—19

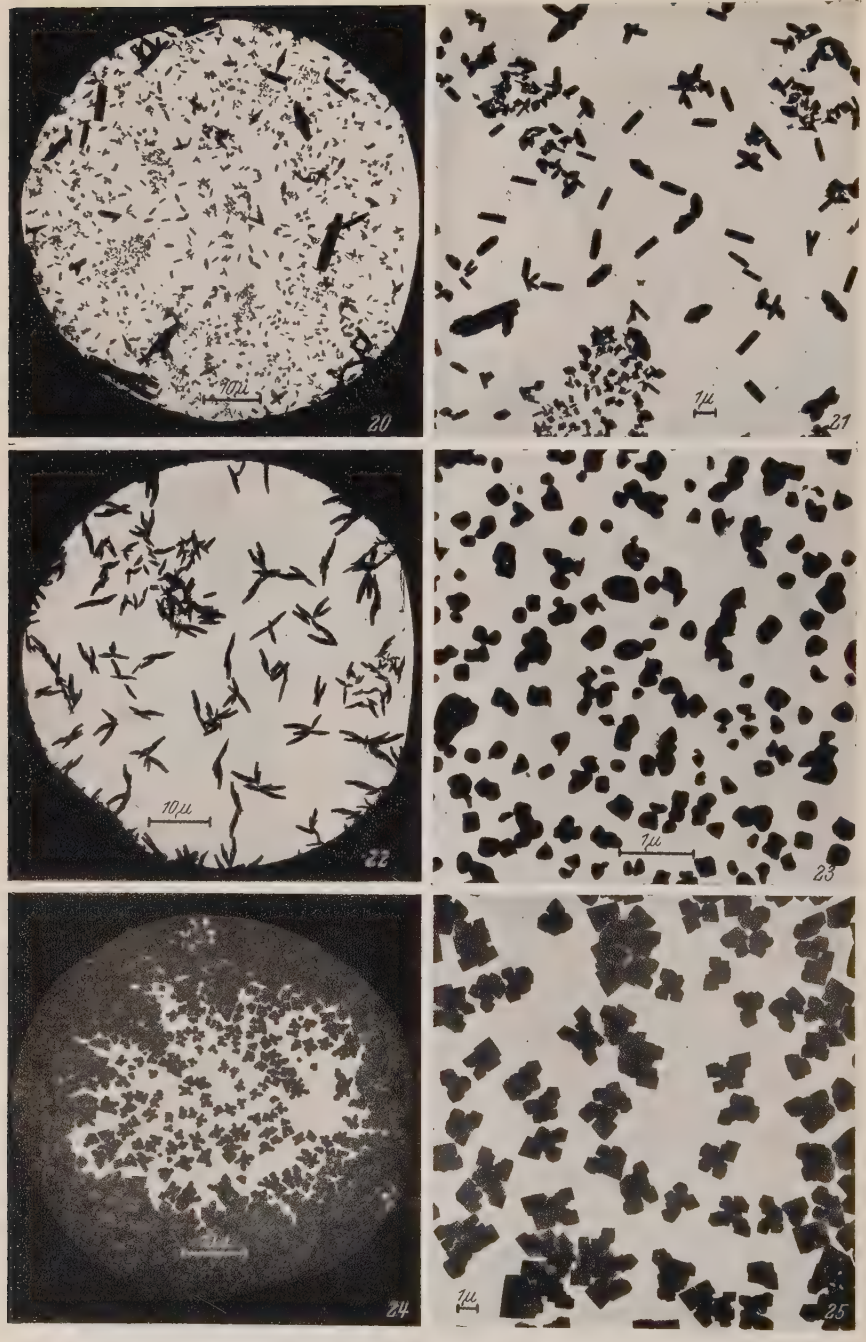


Abb. 20—25

Zum Aufbringen der Probelösung muß die Präparatblende umgedreht werden. Zur Dosierung des Tropfens dient eine geeichte Platinöse, deren Füllung mit einer Glaskapillare (1. W. = 0,1 mm) auf einen Glasfaden übertragen wird. Das am Glasfaden hängende Tröpfchen wird direkt auf die Bohrung der Präparatblende aufgesetzt. In den meisten Fällen läßt sich bereits nach wenigen Sekunden die Entstehung des Reaktionsproduktes beobachten. Sind längere Einwirkungszeiten erforderlich, so bringt man die mit den Lösungen versehene Objektträgerblende in eine Dampfkammer, um ein Eintrocknen der Lösungen zu verhindern. Alle diese Manipulationen werden unter dem Stereomikroskop bei 30- bis 50facher Vergrößerung im Durchlicht beobachtet.

Sehr wichtig ist außerdem, daß sich die Präparatblenden sicher und bequem handhaben lassen. Vor allem dürfen sie nicht auf einer Unterlage aufliegen und müssen von beiden Seiten leicht zugänglich sein. Hierfür eignen sich Kreuzfederpinzetten sehr gut, deren Enden, wie Abb. 13 zeigt, zum Umfassen der Präparatblenden nach Art einer Zange geformt sind.

Die Behandlung des Reaktionsproduktes

Da das Reaktionsprodukt im Elektronenmikroskop nicht im Reaktionsmilieu geprüft werden kann, muß man es vorher von allen Begleitstoffen des Reaktionsgemisches befreien. Dazu ist sorgfältiges Waschen des Trägerfilms von beiden Seiten erforderlich, wobei sich die jeweils verwendete Waschflüssigkeit nach der Art des Niederschlages richtet. Beim Waschen wird zunächst die auf der Objektseite sitzende Lösung mit einem Tropfen der Waschlösung verdünnt. Danach saugt man sie mit einer geeignet dimensionierten Kapillare bis auf ein kleines, den Film bedeckendes Tröpfchen ab. Die Saugkapillare wird so geführt, daß der Tropfen nie über den Film hinwegstreicht, sondern sich konzentrisch um die Bohrung herum verkleinert. Das Zugeben und Absaugen der Waschlösung muß mehrere Male durchgeführt werden.

Im Laufe der Versuche konnte beobachtet werden, daß wäßrige Waschflüssigkeiten beim Eintrocknen des letzten Waschtröpfchens häufig zum Zerreißen des Films führen. Ersetzt man jedoch zum Schluß

Abb. 20. Bleisulfat, Fällung einer Bleiacetatlösung mit 1-n Schwefelsäure. Gesamtansicht der durchstrahlten Filmfläche. $M_{el} = 970 : 1$

Abb. 21. Bleisulfat, Bildausschnitt aus Abb. 20. $M_{el} = 2500 : 1$

Abb. 22. Bleisulfat, Fällung wie Abb. 20. Gesamtansicht der durchstrahlten Filmfläche. $M_{el} = 900 : 1$

Abb. 23. Thalliumjodid, Fällung einer Thalliumnitratlöung mit einer 1%igen Lösung von Kaliumjodid. $M_{el} = 9400 : 1$

Abb. 24. Thalliumchloroplatinat, Fällung einer Thalliumnitratlösung mit einer 10%igen Lösung von Platinchlorwasserstoffsäure. Der Niederschlag entspricht einer angewandten Menge von 0,003 μg Thallium. Gesamtansicht der durchstrahlten Filmfläche. $M_{el} = 750 : 1$

Abb. 25. Thalliumchloroplatinat, Bildausschnitt aus Abb. 24. $M_{el} = 2500 : 1$

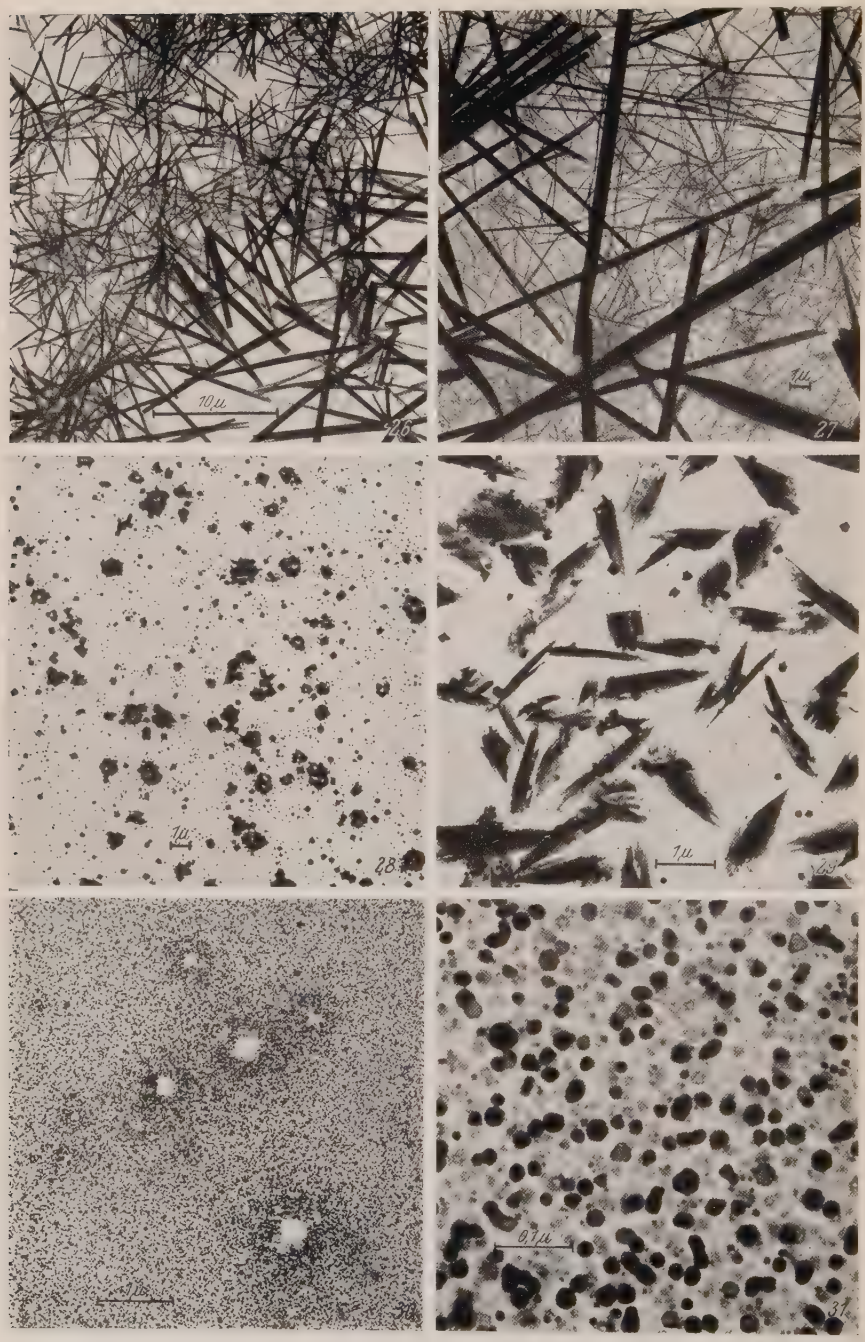


Abb. 26—31

des Waschvorganges das wäßrige Waschmittel durch Alkohol-Wassergemische mit steigendem Alkoholgehalt, so tritt diese Erscheinung sehr selten auf. Es ist zweckmäßig, das Reinigen der Objektseite vor Anwenden der Alkohol-Wasser-Reihe zu unterbrechen und nach Aufgeben des letzten Tropfens, ohne diesen abzusaugen, die Konusseite zu waschen. Auch hier verdrängt man zum Schluß die erste Waschflüssigkeit durch Alkohol-Wassergemische und läßt nach dem Absaugen des letzten Tröpfchens den Rest verdampfen. Anschließend wird die Objektseite mit zwei bis drei Tröpfchen der Alkohol-Wasserlösung nachgespült. Man achtet dabei darauf, daß der Rest des zuletzt aufgegebenen Tropfens in einer gleichartigen Dampfatmosphäre langsam verdunstet. Damit ist der Waschvorgang beendet. Das Präparat ist für die Beobachtung im Elektronenmikroskop bereit.

In den Abb. 14 bis 31 sind einige Ergebnisse dieser Versuche dargestellt. Die aus einer umfangreichen Versuchsreihe herausgegriffenen Beispiele zeigen, daß die beschriebene Methode für die Ausführung von Reaktionen in der Elektronenmikroskopie verwendbar ist. Das Ziel dieser Untersuchungen lag nicht in der Ermittlung der nach diesem Verfahren erreichbaren Erfassungsgrenzen, sondern es sollten vorläufig nur die Vorbedingungen für die in dieser Richtung nachfolgenden Arbeiten geschaffen werden. Die Menge der nachzuweisenden Stoffe wurde daher nur so weit berücksichtigt, wie dies für die richtige Dosierung der zu erwartenden Niederschläge von Bedeutung war. Sie bewegte sich in der Größenordnung von einigen tausendstel bis einigen hundertstel Mikrogramm des nachzuweisenden Metallions.

Bezüglich der Auswahl der in der analytischen Chemie verfügbaren Reaktionen scheiden hier alle durch keine Fällung gekennzeichneten Nachweisverfahren aus. Hierunter fallen z. B. Reaktionen, deren Eintritt durch eine Farbänderung oder durch eine Gasentwicklung angezeigt wird. Nach den bisherigen Erfahrungen sind auch langsam ablaufende Vorgänge

---

Abb. 26. Nickeldimethylglyoxim, Fällung einer Nickelsulfatlösung mit einer ammoniakalischen, alkoholhaltigen Lösung von Dimethylglyoxim. $M_{el} = 1650 : 1$

Abb. 27. Nickeldimethylglyoxim, Fällung wie Abb. 26. $M_{el} = 2600 : 1$

Abb. 28. Silberdichromat, Fällung einer Silbernitratlösung mit einer 1%igen Lösung von Kaliumdichromat. $M_{el} = 2500 : 1$

Abb. 29. Silberchromat, Fällung einer Silbernitratlösung mit einer 2%igen Lösung von Kaliumchromat. $M_{el} = 7700 : 1$

Abb. 30. Goldteilchen, Fällung durch Reduktion einer Goldchloridlösung mit einer salzsauren, 10%igen Lösung von Zinn(II)chlorid. In dem Trägerfilm sind Löcher, um die herum eine stärkere Wechselwirkung zwischen den Reaktionspartnern eintrat. Die Goldabscheidung ist hier dichter. Der Niederschlag entspricht einer angewandten Menge von 0,002 μg Gold. $M_{el} = 9900 : 1$

Abb. 31. Goldteilchen, Bildausschnitt aus Abb. 30. An zahlreichen Stellen sind sechseckförmige Kriställchen bis zu einem kleinsten Durchmesser von etwa $3 \cdot 10^{-6}$ cm sichtbar. $M_{el} = 20\,400 : 1$

unbrauchbar. Am besten eignen sich Reaktionen, deren Fällungen die kleinsten Löslichkeitsprodukte aufweisen. Diese Begrenzung in der Auswahl der Reaktionen mindert aber nicht den Wert des Verfahrens, das erst im Anfangsstadium der Entwicklung steht. Bei der systematischen Erprobung der für die Eigenart des Verfahrens in Frage kommenden chemischen Umsetzungen wird sich zweifellos eine Fülle beweiskräftiger Reaktionen ergeben. Es ist zu erwarten, daß die nachfolgenden Untersuchungen Ergebnisse bringen, die sowohl in analytischer als auch in präparativer Hinsicht von allgemeinem Interesse sind. Schon die Tatsache, daß es möglich ist, das Eintreten einer chemischen Umsetzung auf so verschwindend kleinen Flächen durchzuführen und darauf zu beschränken, rechtfertigt den weiteren Ausbau des Verfahrens. Es zeigt uns für das Studium chemischer Erscheinungen an kleinsten Stoffmengen einen neuen Weg, indem es die Voraussetzung schafft, die entstehenden Umsetzungsprodukte einer Reaktion bis zum Bereich des Auflösungsvermögens des Elektronenmikroskops zu beobachten.

Frau *Irmgard Hanschke* danke ich für ihre Mitarbeit und für die Ausführung zahlreicher Versuche. Ebenso bin ich Herrn *Klaus Grohmann* für die Durchführung von Vorversuchen zu Dank verpflichtet.

Die Firma Wolff & Co., Walsrode/Hann., hat uns freundlicherweise eine große Auswahl an Collodiumproben zur Verfügung gestellt und ich möchte für diese Unterstützung meinen besonderen Dank aussprechen.

Zusammenfassung

Für die elektronenmikroskopische Auswertung von Reaktionen werden die Bedingungen für die ausschließliche Fällbarkeit von Reaktionsprodukten auf der Trägerfolie einer Objektträgerblende geprüft.

Durch Anwendung eines Fällungsprinzips, das darin besteht, daß zwei miteinander reagierende Lösungen von beiden Seiten des Trägerfilms durch den Film diffundieren, gelingt es, Niederschläge auf ähnliche Weise wie elektrolytisch fällbare Produkte ausschließlich auf der beobachtbaren Filmfläche abzuscheiden. Durch Überziehen der Blendenoberfläche mit einer dickeren Collodiumlackschicht wird eine Reaktion außerhalb des durchstrahlbaren Films auf der Oberfläche der Blende verhindert. Ein nach dieser Ausführungsweise gefälltes Reaktionsprodukt ist in seiner Gesamtmenge im Elektronenmikroskop beobachtbar.

Als Versuchsbeispiele werden die Fällungen von Bariumchromat, Bariumsulfat, Calciumoxalat, Bleisulfat, Thalliumjodid, Thalliumchloroplatinat, Nickeldimethylglyoxim, Silberchromat, Silberdichromat und reduziertem Gold an einer Reihe von Bildern gezeigt.

Zur Illustrierung der elektrolytischen Abscheidung von Metallen dienen die Abbildungen der elektrolytischen Reduktion von Silber, Kupfer, Quecksilber, Platin und Gold, zum Teil in der Gesamtansicht auf kleinsten, innerhalb des Trägerfilms hergestellten Kathodenflächen.

Summary

The conditions were tested for the exclusive precipitatability of reaction products on the carrier foil of a stage screen for the electron microscopic evaluation of reactions.

By using a precipitation principle which states that two solutions reacting with each other from both sides of the carrier film diffuse through the film, it is possible to deposit precipitates exclusively on the observable film surfaces in the same way as electrolytically precipitable products. By coating the surface of the screen with a thick layer of collodion, a reaction outside of the penetrable film on the surface of the screen is prevented. A reaction product precipitated by this method can be viewed in its entirety in the electron microscope.

Test examples were the precipitation of: barium chromate, barium sulfate, calcium oxalate, lead sulfate, thallium iodide, thallium chloroplatinate, nickel dimethylglyoxime, silver chromate, silver dichromate, and reduced gold. These are illustrated. To show the electrolytic deposition of metals, pictures are given of the electrolytic deposition of silver, copper, mercury, platinum, gold, in part in the total view on the smallest cathode surfaces formed within the carrier film.

Résumé

Afin de pouvoir interpréter des réactions par microscopie électronique, l'auteur examine les conditions qui permettent de précipiter les produits de réaction exclusivement sur le film porteur d'un diaphragme porte-objet. En mettant en œuvre un principe de précipitation fondé sur le fait que deux solutions situées de chaque côté du film porteur et susceptibles de réagir l'une sur l'autre, diffusent à travers ce film, il a été possible d'obtenir des précipités qui se déposent exclusivement sur la surface de film soumise à l'observation de même façon que des précipités électrolytiques. En recouvrant la surface du diaphragme d'une épaisse laque de collodion on empêche toute réaction de se produire extérieurement à la surface du film transparent au rayonnement. Un produit de réaction précipité suivant ce mode opératoire est susceptible d'être observé dans sa totalité au microscope électronique.

Une série de photographies montre les résultats obtenu pour les précipitations du chromate de baryum, du sulfate de baryum, de l'oxalate de calcium, du sulfate de plomb, de l'iodure de thallium, du chloroplatinate de thallium, du complexe nickel-diméthylglyoxime, du chromate d'argent, du bichromate d'argent et de l'or réduit.

La séparation électrolytique des métaux est illustrée par des figures dont certaines sont des vues totales relatives à la réduction électrolytique de l'argent, du cuivre, du mercure, du platine et de l'or sur de très petites surfaces cathodiques préparées au sein du film porteur.

Literatur

[1] *Behrens-Kley*, Mikrochemische Analyse, Leipzig und Hamburg 1915; *F. Emich*, Lehrbuch der Mikrochemie, 2. Aufl. München: Bergmann. 1926. S. 6 bis 10.

[2] *F. Emich*, Z. analyt. Chem. **54**, 493 (1915); *H. Scheucher*, Mh. Chem. **43**, 411 (1921); *A. Fuchs*, Mh. Chem. **42**, 129 (1922).

[3] *A. A. Benedetti-Pichler*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **9**, 483 (1937).

[4] *F. Emich*, Mh. Chem. **22**, 670 (1901); **23**, 76 (1902); Ann. Chem. **351**, 426 (1907).

[5] *H. J. Brenneis*, Mikrochem. **9**, 385 (1931).

[6] *E. Wiesenberger*, Z. wiss. Mikrosk. **62**, 163 (1955).

[7] *H. Ruska*, Naturwiss. **27**, 287 (1939); Siemens-Z. **20**, 228 (1940).

[8] *B. v. Borries* und *W. Glaser*, Kolloid-Z. **106**, 123 (1944).

[9] *H. König*, Nachr. Akad. Wiss. Göttingen, Math.-phys. Kl. 24 (1946); Z. Physik **129**, 483 (1951); *H. König* und *A. Winkler*, Naturwiss. **35**, 136 (1948); *A. Brockes*, *M. Knoch* und *H. König*, Z. wiss. Mikrosk. **62**, 450 (1955).

Aus dem Mikroanalytischen Laboratorium der pharmazeutischen Abteilung der Sandoz A. G., Basel, Schweiz

Über eine Methode zur gleichzeitigen mikroanalytischen Bestimmung des C-, H- und N-Gehaltes organischer Verbindungen mit einer Einwaage*

Von

W. Schöniger

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 6. März 1957)

Vor kurzem[1] wurde in einer vorläufigen Mitteilung eine Methode beschrieben, die es gestattet, den C-, H- und N-Gehalt organischer Verbindungen mit nur einer Einwaage auf mikroanalytischem Wege zu bestimmen. Die Arbeitsweise dieses Verfahrens beruht auf folgendem Prinzip: Die organische Substanz wird in einem geschlossenen, evakuierten System so verbrannt, daß ausschließlich Kohlendioxyd, Wasser und Stickstoff entstehen. Die beiden ersteren werden fraktioniert ausgefroren, der verbleibende Restdruck wird gemessen und entspricht dem Stickstoffgehalt der Substanz. Nach Abpumpen des Stickstoffes wird zunächst der Kohlendioxyd-Druck und anschließend der Wasserdampf-Druck gemessen und aus diesen Werten der C- bzw. H-Gehalt der Substanz bestimmt.

Im folgenden soll nun eine ausführliche Beschreibung der Apparatur sowie der Arbeitsweise gegeben werden.

Apparatur

Der Aufbau der Apparatur ist aus den Abb. 1 und 2 zu entnehmen. Das Verbrennungsrohr ist aus Quarz hergestellt, alle anderen Teile aus Pyrexglas. Alle Hähne müssen hochvakuumdicht eingeschliffen sein. Ferner werden Dewar-Gefäße (siehe Abb. 1) für die Kühlmittel benötigt. Zum Evakuieren des Apparates wird eine leistungsfähige Vakuumpumpe (z. B. Leybold D 2) gebraucht.

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *H. Lieb*, meinem verehrten Lehrer, zum 70. Geburtstag gewidmet.

Der als Füllgas verwendete Stickstoff wird der Apparatur über einen Reinigungstrakt zugeführt. Dieser besteht aus einem Vorverbrennungsrohr und einem Trockenröhrchen und ist über einen Kugelschliff mit dem seitlichen Ansatz des Verbrennungsrohres verbunden. Dieses wird mit frisch reduziertem, drahtförmigem Kupfer gefüllt und auf 400 bis 500° C erhitzt. Das Trockenröhrchen wird je zur Hälfte mit Natronasbest und Magnesiumperchlorat gefüllt.

Abb. 1

Das Verbrennungsrohr (Abb. 2.4) wird, nachdem es in der üblichen Weise mit Chrom-Schwefelsäure gereinigt wurde, mit 40%iger Flußsäure gefüllt eine Stunde lang stehen gelassen. Anschließend wird mit destilliertem Wasser gespült und getrocknet. Die Rohrfüllung setzt sich wie folgt zusammen (Maße in Millimetern, von der Einschnürung beim konischen Schliff aus gemessen): 0 bis 60 Silberdrahtnetz, 60 bis 90 Kupferoxyd, drahtf., 90 bis 250 Nickel, hergestellt nach *Kainz* und *Schöller*[2], 250 bis 330 Kupferoxyd, drahtf. Die Abgrenzung der einzelnen Schichten erfolgt mit Quarzwolle.

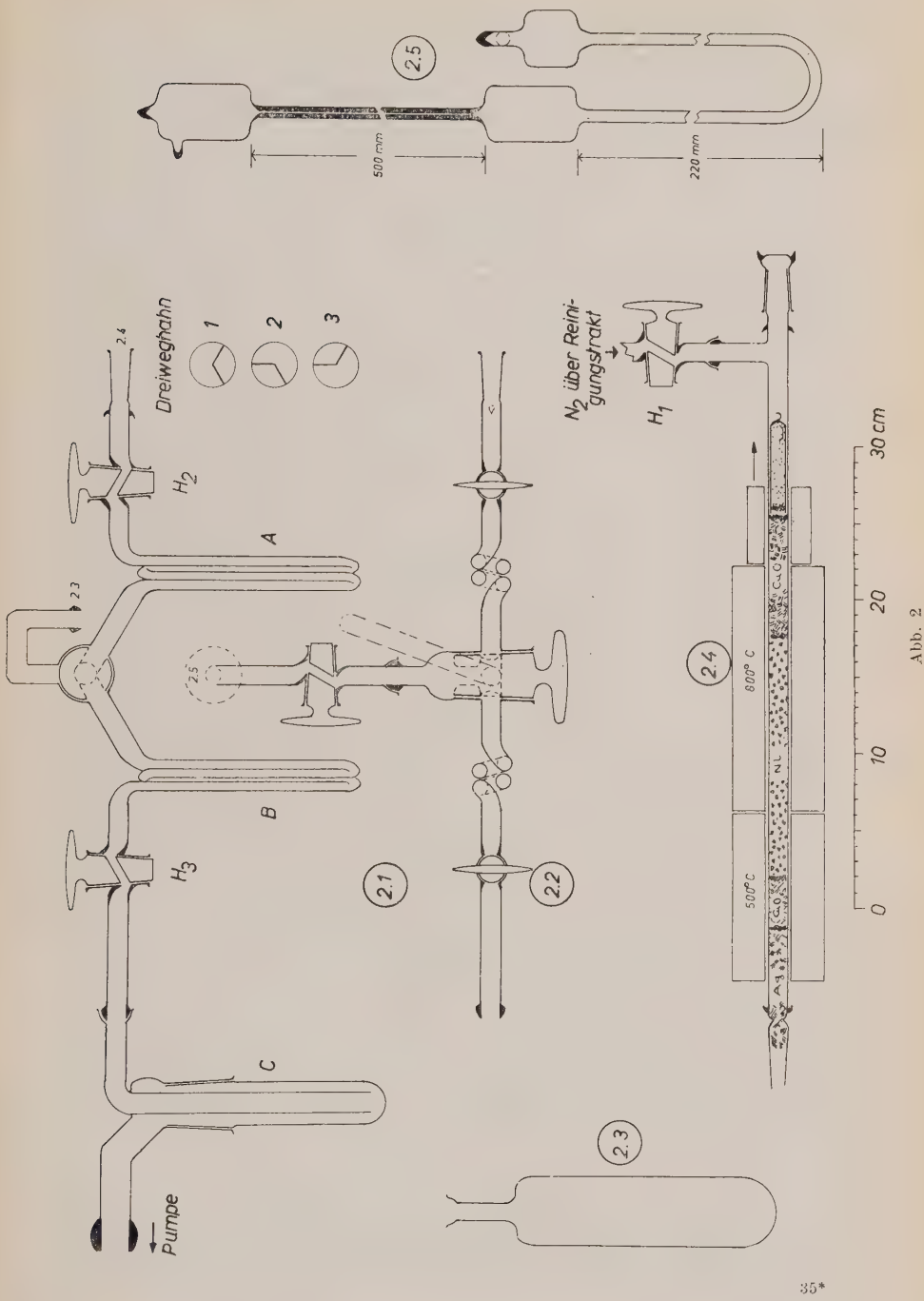

2.5
500 mm
220 mm
Dreiweghahn
1
2
3
2.4
2.3
2.5
H_2
A
B
H_3
C
Pumpe
2.1
2.2
2.3
N_2 über Reinigungsstrak
H_1
2.4
800° C
500°C
NL
0
10
20
30 cm

Abb. 2

Die Ausfrierfallen für Wasser und Kohlendioxyd (Abb. 2.1, A und B) sind über einen konischen Schliff mit dem Verbrennungsrohr und über Kugelschliffe mit der Sicherheitsausfrierfalle und dem Manometer verbunden.

Die Sicherheitsausfrierfalle (Abb. 2.1, C) soll einerseits das Rückdiffundieren von Öldämpfen aus der Vakuumpumpe verhindern, andererseits das im Laufe einer Analysenserie entstandene Wasser bzw. Kohlendioxyd auffangen. Sie wird stets mit flüssiger Luft gekühlt.

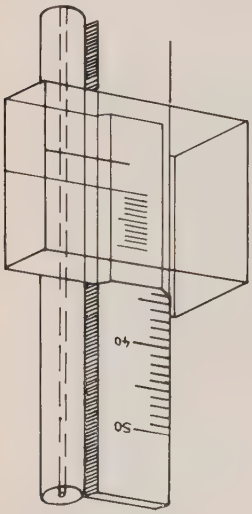


Abb. 3

Der Dreiweghahn zwischen den beiden Ausfrierfallen dient zum wahlweisen Verbinden der Ausfrierfallen mit dem Manometer unter gleichzeitiger Einschaltung eines konstanten Zusatzvolumens. Beim Messen des Stickstoffdruckes (Dreiweghahn in Stellung 1) ist das Zusatzvolumen nicht mit dem Manometer verbunden.

Das Manometer (Abb. 2.5) wird, wie von *Anderson* und Mitarbeitern[3] angegeben, selbst hergestellt (Zweiflüssigkeitsmanometer, gefüllt mit Quecksilber und Dibutoxytetraäthylenglykol).

Es wird in ein geeignetes Stativ fest eingespannt und an diesem parallel zur Meßkapillare ein Maßstab mit Millimeterteilung befestigt, der mit einem Schieber mit Noniusteilung versehen ist (Abb. 3). Die Ablesung der Steighöhe muß parallaxenfrei erfolgen. Zur Ablesung kann selbstverständlich auch ein Kathetometer verwendet werden.

Die Sicherheitsausfrierfalle ist über ein weitlumiges Glasrohr mit der Vakuumpumpe verbunden. Zweckmäßigerweise ist an diesem Rohr ein Kontrollmanometer und ein Belüftungshahn (Abb. 1, links außen) angebracht.

Für die Heizung des Verbrennungsrohres werden zwei feste Öfen (110 mm und 160 mm lang) und ein beweglicher Brenner benötigt. Dieser soll sich vom festen Ofen weg in Richtung Rohröffnung mit einer Geschwindigkeit von zirka 10 mm/Minute bewegen. Die Ofentemperaturen betragen: kleiner fester Ofen 500° C, großer fester Ofen 800° C, beweglicher Brenner 850 bis 900° C. Die stationären Öfen werden so über das Verbrennungsrohr geschoben, daß sich der kürzere auf der Seite der Ausfrierfallen befindet (Abstand zwischen der Einschnürung des Verbrennungsrohres und dem Ofenanfang: 25 mm). Der längere Ofen schließt dicht an den kürzeren an, das drahtförmige Kupferoxyd reicht dann zirka 35 mm aus dem Ofen heraus.

Methodik

Die Apparatur wird nach Abb. 1 zusammengebaut, sämtliche Schliffe mit Silikonfett gefettet und auf Dichtigkeit geprüft. Ist die Apparatur

vakuumdicht, so ändert sich der Manometerstand bei konstanter Raumtemperatur mehrere Stunden lang nicht. Man nimmt nun wieder das Verbrennungsrohr aus den Öfen heraus und füllt es wie oben beschrieben. Nach Einsetzen des gefüllten Rohres wird zunächst die gesamte Apparatur so mit Stickstoff gespült, daß der Hahn H_1 voll geöffnet wird und bei laufender Vakuumpumpe durch Betätigen des Feineinstellhahnes H_2 im Manometer ein Druck von 30 bis 40 mm angezeigt wird. Sobald alle Luft entfernt ist, wird zunächst der Ofen des Vorverbrennungsrohres eingeschaltet und etwas später das Verbrennungsrohr ausgeheizt. Das Ausheizen erfolgt am besten über Nacht, man schließt den Hahn H_1, öffnet den Hahn H_2 langsam (der Manometerstand soll nicht wesentlich über 40 mm steigen) völlig und läßt die Vakuumpumpe über Nacht laufen.

Die Kontrolle der vollständigen Entgasung der Rohrfüllung erfolgt so, daß auch Hahn H_3 geschlossen wird. Während einer Stunde soll sich der Manometerstand nicht verändern.

Das zur Verbrennung verwendete gepulverte Kupferoxyd wird aus drahtförmigem selbst hergestellt und im Sauerstoffstrom ausgeglüht. Es wird unter Kohlendioxyd- und Feuchtigkeitsausschluß aufbewahrt.

Von jeder frischen Charge gepulverten Kupferoxyds muß zunächst ein Blindwert bestimmt werden. Zu diesem Zweck wird der Hahn H_2 geschlossen und der Hahn H_1 geöffnet, um das Verbrennungsrohr mit Stickstoff zu füllen. Der Hahn H_3 ist geöffnet, der Dreiweghahn steht in Stellung 1. Die festen Öfen sind eingeschaltet, der bewegliche Brenner befindet sich nicht über dem Verbrennungsrohr. Nun wird eine Quarzkapsel (siehe Abb. 2.4) mit gepulvertem Kupferoxyd gefüllt und oben mit etwas ausgeglühtem Asbest verschlossen. Man entfernt die Schliffkappe vom Verbrennungsrohr und schiebt die Kapsel so in das Rohr ein, daß die offene Seite die Rohrfüllung gerade berührt. Der Raum hinter der Quarzkapsel wird durch einen Quarzstab, der bis zur Rohröffung reicht, verkleinert. Die Schliffkappe wird jetzt aufgesetzt, der Hahn H_1 geschlossen und der Feineinstellhahn H_2 langsam geöffnet (Manometerstand nicht wesentlich höher als 40 mm). Sobald die Apparatur vollständig evakuiert ist (Kontrollmanometer: Vakuum besser als 10^{-2} mm Hg), werden die Ausfrierfallen gekühlt (*A* mit Trockeneis/Aceton, *B* mit flüssiger Luft) und der Hahn H_3 geschlossen. Man liest jetzt den Nullwert des Manometers ab. Nun wird der bewegliche Brenner über das Verbrennungsrohr geschoben und nach 3 Minuten der Vorschub eingeschaltet. Nach Erreichen der Endstellung wird er dort 5 Minuten stehen gelassen, dann das Rohr nochmals durchgeheizt und der bewegliche Brenner nach abermaligem Erreichen der Endposition in die Ausgangsstellung geschoben und dort über dem Rohr gelassen, bis seit Beginn der Bestimmung insgesamt 30 Minuten vergangen sind. Jetzt liest man den Stickstoffdruck

ab (höchstens 0,2 mm Blindwert). Nun wird durch Öffnen des Hahnes H_3 die Verbindung mit der Vakuumpumpe hergestellt und, sobald das Manometer wieder den Nullwert anzeigt, der Feineinstellhahn H_2 und anschließend der Hahn H_3 geschlossen. Der Dreiweghahn wird in Stellung 2 gebracht, das Dewargefäß mit flüssiger Luft entfernt und die Ausfrierfalle in ein Gefäß mit Wasser von Raumtemperatur eingetaucht. Sowie sich der Manometerstand nicht mehr ändert, wird abgelesen, die Differenz zum Nullwert entspricht dem Kohlendioxyd-Blindwert (höchstens 3 mm). Nun wird wieder der Hahn H_3 geöffnet und so lange gepumpt, bis das Manometer wieder den Nullwert anzeigt. Man bringt sodann den Dreiweghahn in Stellung 3, entfernt das mit Trockeneis/Aceton gefüllte Dewargefäß, erwärmt wie vorher durch Eintauchen in Wasser von Zimmertemperatur und liest wiederum den Manometerstand ab. Die Differenz zum Nullwert entspricht dem Wasser-Blindwert (höchstens 4 mm). Durch Wiederholung des Versuches überzeugt man sich von der Konstanz des Blindwertes.

Nun wird die Apparatur durch Ausführung von ungefähr 10 bis 12 Analysen von Azobenzol empirisch geeicht. 3 bis 5 mg Substanz werden in ausgeglühte Quarzschiffchen eingewogen. Man füllt in die Quarzkapsel zunächst zirka 20 bis 30 mm fein gepulvertes Kupferoxyd ein, läßt dann das Schiffchen mit der Substanz vorsichtig in die Kapsel hineingleiten und füllt mit gepulvertem Kupferoxyd auf. Nachdem die Füllung mit etwas ausgeglühtem Asbest fixiert ist, wird die Kapsel, wie oben beschrieben, in das Rohr eingeführt. Während des Evakuierens ist es empfehlenswert, die Stelle des Verbrennungsrohres, an welcher sich die Kapsel befindet, mit Trockeneis zu kühlen. Die weitere Ausführung der Bestimmung erfolgt genau so, wie vorher bei der Bestimmung des Blindwertes beschrieben wurde.

Die Manometersteighöhen werden in Millimeter pro 1 mg C (H, N) umgerechnet. Der Mittelwert aus 10 Testbestimmungen wird dann zur Berechnung der Analysen verwendet. Bei der im hiesigen Laboratorium verwendeten Apparatur betragen diese Werte:

$$\begin{aligned} 1\text{ mg C} &= 75{,}6\text{ mm} \quad (= F_C) \\ 1\text{ mg H} &= 440{,}6\text{ mm} \quad (= F_H) \\ 1\text{ mg N} &= 77{,}7\text{ mm} \quad (= F_N) \end{aligned}$$

Berechnung der Prozentwerte C, H, N:

$$\%\,\mathrm{C\,(H, N)} \frac{\mathrm{mm}\, p_{CO_2\,(H_2O,\,N_2)} \cdot 100}{F_{\mathrm{C\,(H,\,N)}} \cdot \mathrm{mg\ Subst.}}.$$

Die gleichzeitige Bestimmung des C-, H- und N-Gehaltes gestattet es ferner, das Atomzahlverhältnis C : H : N der Substanz zu ermitteln, ohne daß die zur Analyse verwendete Menge Substanz gewichtsmäßig

bekannt ist. Zu diesem Zweck wird die Analyse wie oben beschrieben ausgeführt. Die Berechnung erfolgt nach folgendem Beispiel:

	C	H	N	
Ablesung in mm Steighöhe ..	258,5	104,9	51,1	(1)
(1) : $F_{(C, H, N)}$	3,419 mg	0,2381 mg	0,6577 mg	(2)
(2) : At.-Gew.	0,2847	0,2362	$0{,}0469_5$	(3)
(3) : kleinsten Wert von (3) ..	6,06	5,03	1	

C : H : N = 6,06 : 5,03 : 1 (bzw. × 2, 3, . . .)

Es kann selbstverständlich auch auf ganzzahlige C-Werte bezogen werden, indem die unter (3) erhaltenen Werte durch den C-Quotienten dividiert werden. Man sucht dann diejenigen Vielfachen der so erhaltenen Verhältniszahlen, die möglichst nahe an ganzen Zahlen liegen.

Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, um auf manometrischem Wege mit nur einer Einwaage den C-, H- und N-Gehalt organischer Verbindungen bestimmen zu können. Zu diesem Zweck wird die mit Kupferoxyd vermischte Substanz in einem geschlossenen, auf mindestens 10^{-2} mm Hg evakuierten System verbrannt, das entstandene Kohlendioxyd und Wasser fraktioniert ausgefroren und zunächst der Stickstoffdruck bestimmt. Nach Abpumpen des Stickstoffes wird der Kohlendioxyddruck und zuletzt der Wasserdampfdruck ermittelt und aus den so erhaltenen Werten auf Grund einer empirischen Eichung der Apparatur die Prozentwerte bzw. das Atomzahlverhältnis von C, H und N errechnet.

Summary

A method is described for determining by a manometric process the content of carbon, hydrogen, and nitrogen in organic compounds. Only one sample is needed. The sample, mixed with copper oxide, is burned in a closed system, evacuated to at least 10^{-2} mm Hg, the resulting carbon dioxide and water are fractionally frozen out and the nitrogen pressure is then determined. After the nitrogen is pumped off, the pressure of the carbon dioxide is measured, and then the pressure of the water vapor. These data suffice to give the respective percentages or the atomic ratios of C, H, and N, on the basis of an empirical calibration of the apparatus.

Résumé

Description d'une méthode manométrique permettant de déterminer la teneur en carbone, hydrogène et azote de combinaisons organiques sur une seule prise d'essai. A cette fin, la substance mélangée à de l'oxyde de cuivre

est brûlée dans un système clos dans lequel on a fait un vide correspondant à une pression maximum de 10^{-2} mm de mercure. L'anhydride carbonique et l'eau formés sont tout d'abord éliminés par congélation fractionnée ce qui permet de déterminer l'azote. Après extraction de l'azote à la pompe à vide, on mesure la pression de l'anhydride carbonique puis celle de l'eau. L'étalonnage empirique de l'appareil permet de calculer à partir des valeurs ainsi déterminées soit les teneurs élémentaires, soit les rapports atomiques du carbone, de l'hydrogène et de l'azote.

Literatur

[1] *W. Schöniger*, Helv. Chim. Acta **39**, 650 (1956).
[2] *G. Kainz* und *F. Schöller*, Z. analyt. Chem. **148**, 6 (1955).
[3] *R. C. Anderson, Y. Delabarre* und *A. A. Bothner-By*, Analyt. Chemistry **24**, 1298 (1952).

Aus dem Max-Planck-Institut für Eisenforschung, Düsseldorf

Beitrag zur raschen Bestimmung kleiner Kohlenstoffmengen in anorganischen und organischen Substanzen mit Hilfe der Leitfähigkeitsmessung*

Von

H. Malissa

Mit 7 Abbildungen

(Eingegangen am 28. Februar 1957)

Die Bestimmung geringer Mengen Kohlenstoff in den bei der metallkundlichen Analyse anfallenden Produkten (Isolaten) haben *W. Koch* und *H. Malissa*[1] beschrieben. Das Verfahren beruht auf der Leitfähigkeitsdifferenzmessung[2]. In Fortführung dieser Arbeit wurde in der Zwischenzeit auch die Bestimmung des Schwefels und als vorläufiger Abschluß die gleichzeitige Bestimmung von Schwefel und Kohlenstoff für die Belange der Eisen- und Stahlindustrie ausgearbeitet[3].

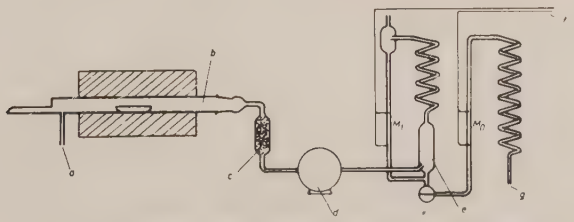


Abb. 1. Schema der Kohlenstoffbestimmungsapparatur

Die quantitative und rasche Erfassung geringer Kohlenstoff- und Schwefelmengen ist aber nicht nur in der Eisen-, Stahl- und metallkundlichen Analyse von großer Bedeutung, sondern in ganz besonderem Maße in der Untersuchung organischer Produkte.

Die Bestimmung des Kohlenstoffs beruht auf der kontinuierlichen Messung der Leitfähigkeitsänderung, die eine verdünnte Natronlauge

* Herrn Prof. Dr. *H. Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

beim Durchleiten kohlensäurehaltiger Gase erfährt. Hierbei wird die Leitfähigkeit der Lauge durch den Ersatz der Hydroxylionen durch Carbonationen erniedrigt, da die Ionenbeweglichkeit der Carbonationen wesentlich geringer ist.

Die Abb. 1 zeigt den prinzipiellen Aufbau der Kohlenstoffbestimmungsapparatur. Sie besteht aus drei Hauptteilen, und zwar

1. der Verbrennungseinrichtung,
2. dem Pumpensystem und der Meßzelle,
3. der Registriereinrichtung.

Die Verbrennungseinrichtung

Grundsätzlich kann jede Verbrennungseinrichtung, die die notwendige Temperatur erreicht, verwendet werden. Wichtig ist bei dieser Arbeitsweise, daß das Verbrennungsrohr, ein Porzellan-, Hartglas- oder Quarzglasrohr, nur einseitig verschlossen ist, da sonst das Pumpensystem nicht funktionieren kann. Die in der Eisen- und Stahluntersuchung üblichen Verbrennungseinrichtungen haben sich auch bei der Untersuchung or-

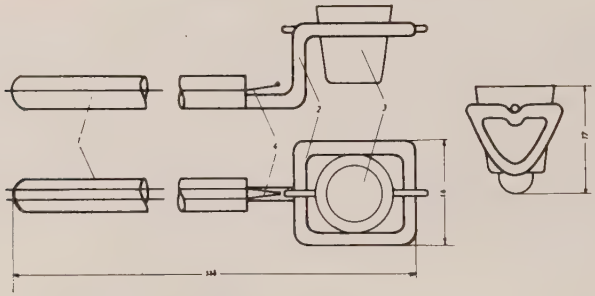


Abb. 2. Quarzeinschiebevorrichtung

ganischer Verbindungen sehr gut bewährt. Somit ist eine wesentliche Vereinfachung des Verbrennungsrohres möglich, da nun keine Füllung mit irgendwelchen Chemikalien mehr notwendig ist. Selbstverständlich kann aber bei der organischen Kohlenstoffanalyse das für sehr hohe Temperaturen notwendige Porzellanrohr durch ein Hartglasrohr entsprechender Abmessungen ersetzt werden. An Stelle der Porzellanschiffchen ist es zweckmäßig, die blindwertärmeren Mikroplatintiegel zur Aufnahme des Analysengutes zu verwenden. Zum Einschieben dieser Platintiegel wurde eine Vorrichtung aus Quarz geschaffen, die in Abb. 2 zu sehen ist. Diese Vorrichtung besteht aus einem Quarzrohr *1* von etwa 8 mm Außendurchmesser, in dem das Thermoelement *4* so eingebaut ist, daß die Temperaturmeßzelle in unmittelbarer Nähe des eingehängten Mikroplatintiegels *3* liegt. Die übrigen Dimensionen sind aus der Zeichnung zu ersehen.

Speziell für die Mikroanalyse wurde ein kleiner elektrischer Verbrennungsofen (Abb. 3) gebaut. Hier ist das Thermoelement im Quarzträger T eingebaut. In der Abb. 4 sind, neben der Skizze des Verbrennungsöfchens auch die Temperaturverteilungskurven des Ofens bei verschiedenen Höchsttemperaturen angegeben. Damit hat man die Möglichkeit, ohne Veränderung des Eingangstransformators nur durch Wahl der Einschiebehöhe die zweckmäßigen Verbrennungstemperaturen anzuwenden. Bei hohen Temperaturen kommt es sehr oft zu explosionsartigen Verbrennungen. Wie Versuche mit Thioacetamid einerseits und Molybdäncarbid anderseits gezeigt haben, hat ein so heftiger Verbrennungsvorgang auf die Kohlenstoffbestimmungen keinen Einfluß, wohl aber auf die eventuelle Analyse des Metallrückstandes. Bei der plötzlichen Verbrennung wird nämlich ein Teil des Materials fein zerstäubt und geht so einer Rückstandsbestimmung verloren. Vollständige Zersetzung findet auf jeden Fall statt. Das plötzliche Auftreten hoher Kohlensäurekonzentrationen hat aber keinen nachteiligen Einfluß auf die Kohlenstoffbestimmung, da das Pumpensystem stark genug ist, um die Gase abzusaugen.

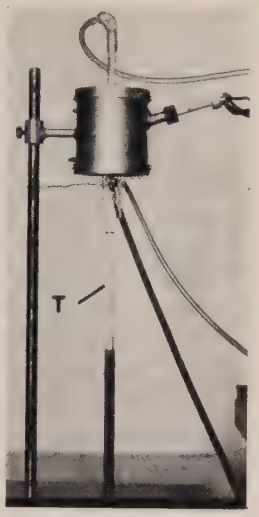


Abb. 3. Mikro-Verbrennungseinrichtung

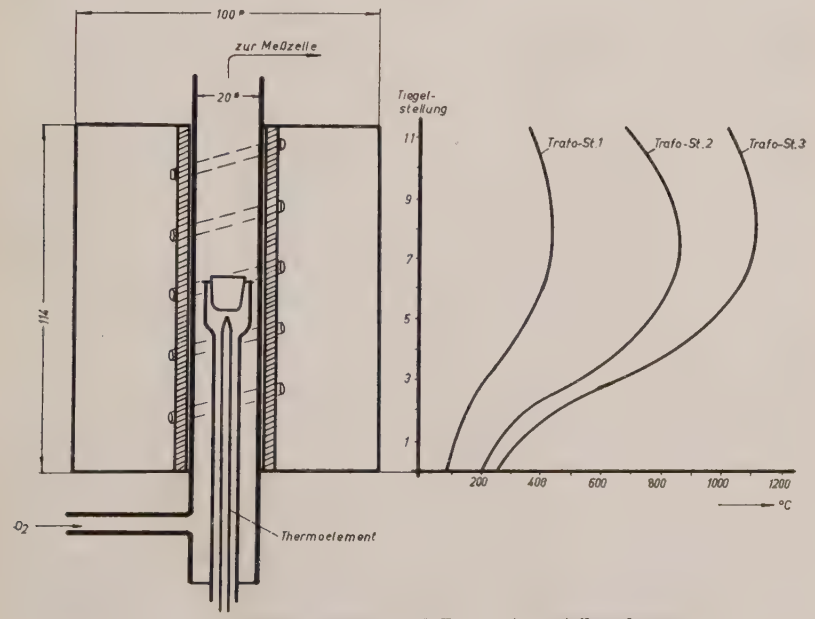


Abb. 4. Verbrennungsöfchen und Temperaturverteilungskurven

Das Pumpensystem und die Meßzelle

Einer der wichtigsten Bestandteile der gesamten Apparatur ist das Pumpensystem, das die bei der Verbrennung entstehenden Gase unter konstantem Druck absaugt. Es besteht aus 4 Einzelpumpen, die sowohl saugen als auch drücken können. Die Umsetzung zwischen der Absorptionslösung und dem Kohlendioxyd verläuft nicht vollkommen quantitativ, daher muß für eine konstante Gasförderung gesorgt werden, die durch das Pumpensystem gewährleistet wird. Bevor das Gasgemisch aber in die Meßzelle durch eine Düse hineingedrückt wird, wird zwecks Entfernung des bei der Verbrennung schwefelhaltiger Produkte entstehenden Schwefeldioxyds das Gasgemisch durch einen geeigneten Absorber geleitet und gelangt von dort zur eigentlichen Meßpumpe, die immer 275 cm^3 Gas aus dem Gemisch absaugt und unter einem Druck von 80 mm Hg in den Reaktionsteil der Meßzelle befördert.

Der bei *a*, Abb. 1, mit einer Strömungsgeschwindigkeit von 3 l/min eingeführte gereinigte Sauerstoffstrom ist wesentlich rascher als der von der Pumpe abgesaugte Gasstrom von 275 cm^3/min, so daß noch ein großer Teil des Sauerstoffs das Rohr an der Beschickungsseite verläßt und dabei ein Eindringen von Luftkohlensäure verhindert. Das kohlensäurehaltige Verbrennungsgas wird vor Eintritt in die Pumpe *d* noch durch ein mit Lewatit, einem Ionenaustauscher, gefülltes Absorptionsröhrchen *c* geleitet, in dem das bei der Verbrennung entstandene Schwefeldioxyd absorbiert wird. Da Schwefeldioxyd die Leitfähigkeit ebenfalls beeinflußt, muß es vollständig absorbiert werden. Die Absorption muß *vor* der Pumpe *d* erfolgen, um eine Verschmutzung des Öles mit Schwefeldioxyd zu vermeiden. Öle lösen Schwefeldioxyd und geben es langsam wieder ab.

Zur Messung der Leitfähigkeitsänderung dient die Meßstrecke M_1 und die Vergleichsmeßstrecke M_0. Beide werden zu Beginn des Versuches mit der gleichen, etwa 0,005-n Natronlauge gefüllt. Die Kohlensäure wird nur durch die Meßstrecke M_1 geführt, in der sich mit ihrem Eintritt die Leitfähigkeit ständig ändert. Hat das bei der Verbrennung entwickelte Kohlendioxyd M_1 durchströmt, so stellt sich ein Endwert der Leitfähigkeit ein, der dem Kohlenstoffgehalt der Probe entspricht. Während der Absorption wird der Leitfähigkeitsunterschied beider Meßstrecken gemessen.

Die Registriereinrichtung

Die Leitfähigkeitsänderung wird als Differenzwert nach elektrischer Verstärkung auf einen Kompensations-Linienschreiber mit Nullpunktsmotor übertragen und aufgezeichnet. Wenn sich in beiden Meßstrecken frische Lösung befindet, so stellt sich der Zeiger bzw. Schreiber auf den Nullpunkt bzw. auf den Blindwert ein. Der Nullpunkt kann mit Hilfe von Potentiometern in verhältnismäßig weiten Grenzen stufenlos verändert werden. Durch eine besondere Vorrichtung kann die Empfindlich-

keit sowohl am elektrischen Teil als auch im Leitungssystem verändert werden. Bei der Gaszuführung wird durch Öffnen eines Hahnes kohlendioxydfreie Außenluft zwecks Verdünnung der hochkohlensäurehaltigen Gase mit angesaugt, wodurch das Gas in einem bestimmten Verhältnis geteilt und somit nur ein Teil der ursprünglichen Verbrennungsgase in die Absorptionszelle befördert wird.

Die objektive Aufzeichnung des gesamten Verbrennungsablaufes durch das Schreibgerät macht diese Bestimmungsmethode nicht nur für die Auswertung und Überwachung bei Routineanalysen brauchbar, sondern insbesondere für wissenschaftliche Untersuchungen, denn erst jetzt kann darüber geurteilt werden, *wie* und *wann* die Kohlenstoffentbindung bzw. die Verbrennung vor sich gegangen ist. Ein Unterschied der Verbrennbarkeit verschiedener Kohlenstoffverbindungen in einer Substanz gibt sich durch eine Stufenausbildung zu erkennen. Ein sehr interessantes Beispiel hierfür bietet die differenzierte Verbrennung von Graphitkohlenstoff und Gesamtkohlenstoff im Grauguß[1], wobei bewiesen wurde, daß bei Temperaturen zwischen 600 und 700° C nur der Graphitkohlenstoff verbrennt und erst bei Temperaturen über 800° der Carbid-Kohlenstoff. Ähnliche Untersuchungen können auch in der organischen Analyse eine Rolle spielen. Die Variationsmöglichkeiten, insbesondere in Verbindung mit der kontinuierlichen Temperaturregistrierung, können besonders für die organisch-chemische Synthese und Betriebskontrolle bedeutungsvoll werden.

Der Verbrennungsablauf bei der Kohlenstoffbestimmung

Nach der Umsetzung des Kohlenstoffs mit dem Sauerstoff im Verbrennungsrohr wird das kohlendioxydhaltige Gas durch das Leitungssystem gepumpt und gelangt nach zirka 40 sec. in die Meßstrecke M_1 (Abb. 1). Die Kohlensäure konnte sich vor der Absorption in der Meßstrecke noch nicht völlig gleichmäßig verteilen. Dadurch entsteht an einigen Stellen eine Überkonzentration von Kohlendioxyd und daher eine etwas zu hohe Leitfähigkeitsänderung. Erst bei voller Durchmischung in der Meßstrecke stellt sich der Endwert ein. Man muß aus diesem Grunde mit dem Auswerten warten, bis der Schreiber wieder den Blindwert mit gleichbleibender Steigung anzeigt. Der Kohlenstoffgehalt entspricht dann dem waagerechten Abstand der beiden Blindwertsgeraden (Abb. 5). Bei kleinen Kohlenstoffgehalten sind davon noch die Blindwerte abzuziehen.

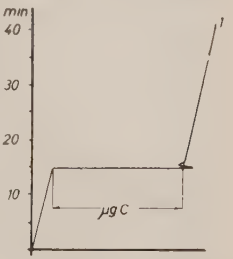


Abb. 5. Kurvenverlauf bei der Mikro-C-Bestimmung

Bei schwer verbrennbaren Materialien oder bei zu niedriger Ofentemperatur verläuft die Verbrennung langsam, und man erhält dann Kurvenzüge ohne Rücklaufspitze[1].

Organische Verbindungen verbrennen nach den bisherigen Erfahrungen bei Temperaturen über 1000° C durchwegs rasch und vollständig, so daß man vorwiegend Verbrennungskurven nach Art der Kurve 1 bekommt.

Das Eichen

Die Eichung wird mit Testsubstanzen, deren Kohlenstoffgehalt genau bekannt ist, vorgenommen. Üblicherweise verbrennt man bei der Kohlenstoffbestimmung in Metallen, Stählen usw. 1 g, soweit es sich um übliche Kohlenstoffgehalte handelt, bei höheren Kohlenstoffgehalten aber kleinere Mengen. Bei organischen Verbindungen wägt man 1 mg auf der Mikrowaage in den Platintiegel ein und verbrennt bei der geeigneten Temperatur. Mit Hilfe des Potentiometers wird nach der Verbrennung die Empfindlichkeit so eingestellt, daß der angezeigte Wert mit dem Sollwert, bezogen auf die Einwaage, übereinstimmt. Zur Eichung dürfen nur besonders homogene Proben herangezogen werden, die auch über lange Aufbewahrungszeiten hinweg keine Veränderung erleiden.

Die Blindwerte

Die unmittelbare Aufzeichnung des Verbrennungsablaufs durch das Schreibgerät ermöglicht eine Beurteilung der Verbrennung und macht dadurch das Verfahren besonders sicher. Es ist bekannt, daß auch gereinigter Sauerstoff stets noch kleine Mengen Kohlensäure enthält, die bei geringen Kohlenstoffmengen berücksichtigt werden müssen. Diese kleinen Kohlensäuremengen werden von dem Gerät sicher erfaßt und laufend aufgeschrieben. Abb. 6 zeigt dazu einige Diagramme. Die Kurven 1 bis 4 zeigen die Kohlensäuregehalte des Sauerstoffs an, aufgeschrieben bei den vier möglichen Empfindlichkeitsstufen. Die Kohlensäuremengen sind der Zeit proportional. Kurve 4 entspricht der empfindlichsten Stufe. Der Blindwert beträgt hier 2,0 μg C/min. Da die Verbrennung in der Regel in 10 bis 15 sec. abläuft, beträgt dieser Blindwert bei einer Bestimmung weniger als 1 μg C.

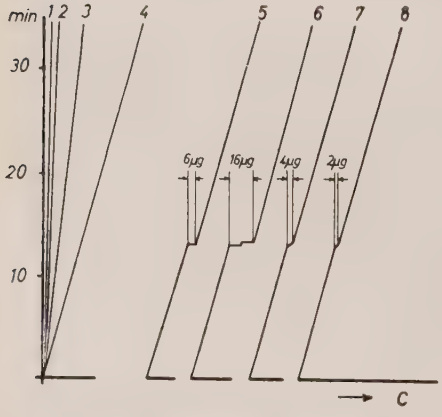


Abb. 6. Verschiedene Blindwerte

Getrennt davon lassen sich nun auch die Kohlenstoffblindwerte der eingeführten Geräte und Zuschlagmittel erfassen. Kurve 5 zeigt den Blindwert, den ein unausgeglühter Einführungsstab aus hitzebeständigem

Stahl abgibt, wenn er zum Einführen des Schiffchens einige Sekunden in die Glühzone gebracht wird. Durch kurzes Ausglühen des Stabes im Sauerstoffstrom läßt sich dieser Blindwert schon merklich vermindern, wie aus Kurve 7 hervorgeht. Kurve 6 zeigt die Blindwerte eines unausgeglühten Stabes und eines unausgeglühten Schiffchens. Die Kohlensäure des Stabes und des Schiffchens wird nicht gleichzeitig freigegeben. Die zunächst freigegebene Menge stammt vom Stab, die spätere vom Schiffchen. Der Blindwert des Schiffchens läßt sich durch vorheriges Ausglühen

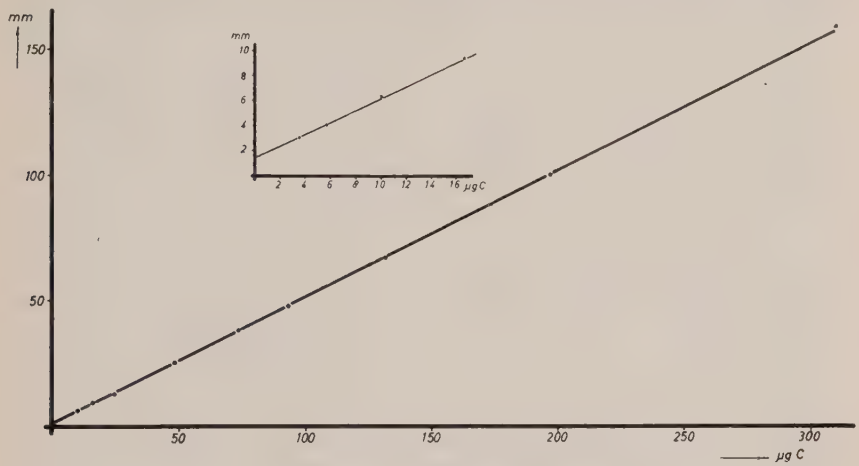


Abb. 7. Eichgerade zur Kohlenstoffbestimmung

im Sauerstoffstrom fast vollständig beseitigen. Kurve 8 entspricht dem verbleibenden Blindwert von Stab und Schiffchen nach langem Ausglühen beider. Er beträgt etwa 2 μg C.

Bei der zur Zeit gewählten Schaltweise entspricht unter Verwendung einer 0,005-n Natronlauge als Absorptionslösung im empfindlichsten Meßbereich jeder Millimeter des waagerechten Kurvenastes 2 μg C. Durch Änderung der Natronlaugenkonzentration z. B. kann die Empfindlichkeit aber noch in weiten Grenzen geändert und den jeweiligen Bedürfnissen angepaßt werden. Bei absoluten Kohlenstoffmengen unter 1000 μg muß der Blindwert vom gefundenen Wert abgezogen werden. Abb. 7 zeigt die Abhängigkeit zwischen Kohlenstoffgehalt und Anzeigelänge. Aus dem vergrößert herausgezeichneten Abschnitt des unteren Bereiches geht deutlich hervor, daß die Gerade die Ordinate bei zirka 2 μg = 1 mm schneidet. Dies entspricht dem Blindwert.

Die Kohlenstoffbestimmung in verschiedenen organischen Substanzen

Nachdem man sich mit Hilfe von Testsubstanzen den Faktor errechnet hat oder durch Verbrennung immer geringerer Kohlenstoffmengen eine

Eichkurve aufgestellt hat, ergibt sich für die Kohlenstoffbestimmung folgende einfache Beziehung: Millimeter × Faktor = μg C bzw. $\frac{\text{mm} \cdot \text{Faktor} \cdot 100}{\text{Einwaage}} = \%\,\text{C}$.

In Tabelle 1 ist die Ermittlung des Faktors mit Hilfe von Oxalsäure (19,06% C) zusammengefaßt.

Tabelle 1

Einwaage mg	theoret. C μg	mm	F	Δ	Δ^2
1,284	244,7	123,2	1,99	0,01	0,0001
1,220	232,5	115,8	2,01	0,01	0,0001
1,021	194,6	96,8	2,01	0,01	0,0001
1,283	244,5	123,2	1,98	0,02	0,0004
1,020	194,4	96,8	2,01	0,01	0,0001

F = theoretischer Kohlenstoffgehalt : Millimeter.

Tabelle 2

Einwaage mg	mm	Gefunden* μg C	% C	Δ**	Mittelwert % C	s***	Varianz %
			Harnstoff				
0,604	63,5	125,0	20,69	0,10			
0,581	60,0	118,0	20,30	0,29	20,59	0,22	1,05
0,480	53,0	104,0	20,83	0,24			
0,477	50,0	98,0	20,54	0,05			
			Oxalsäure				
0,703	69,5	137,0	19,49	0,45			
0,664	68,7	135,0	20,33	0,39			
0,617	61,8	121,6	19,71	0,23	19,94	0,41	2,06
0,512	53,0	104,0	20,31	0,37			
0,483	49,0	96,0	19,87	0,07			
			Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure (Komplexon III)				
0,823	134,2	266,4	32,37	0,02			
0,796	129,3	256,6	32,24	0,11			
0,766	125,3	248,6	32,45	0,10	32,35	0,18	0,57
0,830	136,5	271,0	32,65	0,30			
0,939	152,5	302,0	32,16	0,19			
0,938	152,5	302,0	32,20	0,15			
			Phenacetin				
0,507	169,0	336,0	66,27	0,43			
0,513	172,8	343,6	66,98	0,28	66,70	0,32	0,55
0,514	172,8	343,6	66,85	0,15			

* Der gefundene Wert ist bereits um den Blindwert vermindert.
** Δ = Differenz vom Mittelwert.
*** s = Standardabweichung.

Der Faktor beträgt also 2,00 μg C/mm und konnte mit einer Standardabweichung von 0,014 und einer Varianz von 0,7% bestimmt werden. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse der Kohlenstoffbestimmung in verschiedenen organischen Substanzen zusammengefaßt, woraus ersehen werden kann, daß diese neue Bestimmungsmethode durchaus zufriedenstellende Kohlenstoffgehalte liefert, wobei hier betont werden soll, daß die Ergebnisse in einem Zehntel der bisher üblichen Zeit erhalten werden. Es sind Untersuchungen im Gange, um auch für organische Verbindungen aus einer Einwaage Kohlenstoff und Schwefel zu bestimmen. Damit ist ein weiterer Beitrag zur raschen und genauen Untersuchung organischer Verbindungen gegeben, der zusammen mit der Sauerstoffbestimmung nach *K. Drekopf* und *B. Brauckmann*[4] die organische Elementaranalyse vereinfacht. Zur Zeit ist es mit diesem Verfahren leider noch nicht möglich, auch den Wasserstoff zu erfassen.

Tabelle 3

Einwaage mg	mm	Gefunden	
		μg C	%
0,91	58,0	114,0	12,5
0,99	63,0	124,0	12,5
1,25	79,0	156,0	12,5
1,15	75,0	148,0	12,8
1,06	65,0	128,0	12,1

Im Eisenforschungsinstitut werden mit dieser Methode im Tag von einer Arbeitskraft 80 bis 100 Mikrokohlenstoffbestimmungen durchgeführt.

Die Ergebnisse der Kohlenstoffbestimmung in Calciumcarbonat unter Verwendung der zeitsparenden Torsionswaage nach *G. Gorbach*[5] sind in Tabelle 3 zusammengefaßt. Der Zeitaufwand für eine Analyse beträgt hier einschließlich Wägung und Berechnung 4 min. Die Ergebnisse zeigen, daß unter Berücksichtigung der geringen Genauigkeit der Wägung und der Ablesung der Kohlenstoffgeraden die gefundenen Werte durchaus zur raschen und größenordnungsmäßigen Erfassung des Kohlenstoffs geeignet sind. Die gasvolumetrisch durchgeführten Kontrollbestimmungen erbrachten 12,5% C im Mittel.

Zusammenfassung

Die beim Durchleiten kohlensäurehaltiger Gase durch eine Natronlauge entstehende Leitfähigkeitsänderung wird zur Bestimmung des Kohlenstoffs in organischen Verbindungen herangezogen. Das Verfahren zeichnet sich durch große Empfindlichkeit und außerordentlich rasche Durchführbarkeit aus. Eine einzelne Bestimmung benötigt nach der Einwaage im Durchschnitt 2,5 min. Ein weiterer Vorteil liegt darin, daß außer der Einwaage keine weiteren Wägungen mehr nötig sind und somit die bei der bisher vorwiegend angewandten Preglschen Kohlenstoffbestimmungsmethode notwendigen Vorsichtsmaßregeln und Zeitverluste fortfallen. Sehr wertvoll ist auch die kontinuierliche Aufzeichnung des

Verbrennungsablaufes. Damit ist ein Weg gezeigt, um auch in der organischen Industrie und bei Laboratoriumsversuchen Kohlenstoffbestimmungen rasch und mit geringen Materialmengen durchzuführen. Über weitere Fortschritte mit dieser Methode, über die Bestimmung des Schwefels und die gleichzeitige Bestimmung von Kohlenstoff und Schwefel nach demselben Prinzip wird später berichtet.

Summary

The change in conductivity resulting from the passage of carbonated gases through sodium hydroxide solution is employed for determining carbon in organic compounds. The procedure is very sensitive and extremely rapid. A single determination averages 2·5 minutes, exclusive of the time consumed in weighing the sample. An additional advantage is that no weighings other than the sample weight are needed, and consequently the precautions and time losses accompanying the widely used Pregl determinations of carbon are no longer necessary. The continuous recording of the course of the combustion is also an important feature. This opens a method of conducting carbon determinations rapidly and with little consumption of material in organic industrial laboratories and in laboratory research. A report will be given later on of further advances with this method, and concerning the determination of sulfur and of carbon and sulfur simultaneously by this procedure.

Résumé

La variation de conductivité d'une lessive de soude lorsqu'elle est traversée par un courant de gaz contenant de l'anhydride carbonique est mise à profit pour le dosage du carbone dans les combinaisons organiques. Cette méthode se distingue par sa grande sensibilité ainsi que par l'extraordinaire rapidité de la détermination. Le temps nécessaire à un dosage isolé s'élève en moyenne à 2,5 minutes après la pesée de la substance. Un autre avantage est constitué par l'élimination de toute pesée autre que celle de la prise d'essai de sorte que les rigoureuses conditions de travail et les pertes de temps imposées par la mise en œuvre de méthode de Pregl deviennent sans objet.

Il est également précieux de pouvoir suivre le cours de la combustion de façon continue. Ainsi s'ouvre une voie permettant de doser rapidement le carbone sur de faibles quantités de substance tant dans l'industrie organique que dans les laboratoires de recherches. Une publication ultérieure traitera des autres progrès inhérents à l'emploi de cette méthode ainsi que de la détermination du soufre et de la détermination simultanée du carbone et du soufre d'après le même principe.

Literatur

[1] *W. Koch* und *H. Malissa*, Arch. Eisenhüttenwes. **27**, 695 (1956).

[2] *W. Schmidts* und *D. Baasch*, Entwicklung einer chemisch-physikalischen Apparatur zur Bestimmung kleinster Kohlenoxyd-Konzentrationen. (Forschungsberichte d. Wirtschafts- u. Verkehrsministeriums Nordrhein-Westfalen, Nr. 67.) Opladen: Westdeutscher Verlag. 1954.

[3] *W. Koch*, *S. Eckhard* und *H. Malissa*, Arch. Eisenhüttenwes., demnächst.

[4] *K. Drekopf* und *B. Brauckmann*, Brennstoff-Chem. **36**, 203 (1955).

[5] *G. Gorbach*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 352.

Contribution from the Department of Chemistry, Brooklyn College
Brooklyn 10, N. Y.

A Simple Device for Drying Precipitates*

By

Robert K. Maurmeyer and **T. S. Ma**

With 2 Figures

(Received December 22, 1956)

The Pregl regenerating block[1] has been standard equipment in the microchemical laboratory for many years. It was specially designed for drying the filter tube used in the gravimetric determination of the halogens and alkoxyl groups. However, it has some undesirable features: (a) the fixed diameter of the trough accomodates only filter tubes of specified dimensions; (b) the wide part of the filter tube and the stem must be dried in separate steps; (c) each block can handle only one filter tube at a time. For multiple determinations as in the halogen determination using the Carius furnace, several samples may be precipitated and filtered simultaneously and it becomes desirable to dry the filter tubes simultaneously without the necessity of using several regenerating blocks.

The latest English edition of "Pregl methods" edited by *Grant*[2] in 1951 still prescribes the regenerating block for drying filter tubes. *Steyermark*[3], on the other hand, recommends that the filter tube be placed in an oven and the precipitate dried at 120° C for 30 minutes. The latter method permits the simultaneous drying of several filter tubes, but the advantage of drying the precipitate in a current of air as in the original Pregl technique is lost. Recently the tubular quartz infrared lamp developed by *Christensen* and *Foote*[4] has become commercially available. It is inexpensive and has a very long life (over 5000 hours). The authors have constructed a simple apparatus using this tubular lamp, and the apparatus has served well not only for the drying of precipitates in the filter tube, but also for other purposes in the microchemical and analytical laboratories.

* Dedicated to Prof. *Hans Lieb* on occasion of his 70th birthday.

Construction of the Apparatus

The detailed construction of the apparatus is shown in Fig. 1. It consists of a wooden base measuring 42 cm by 34 cm covered by a polished aluminum sheet 0.5 mm in thickness and backed by heavy asbestos paper. The lamp support and reflector assembly consists of a 3-ply wood board 13 cm high and 9 cm wide and measures 5.5 cm across the constricted part. The aluminum sheet is fastened to the support to form a reflector. The infrared quartz lamp is attached by

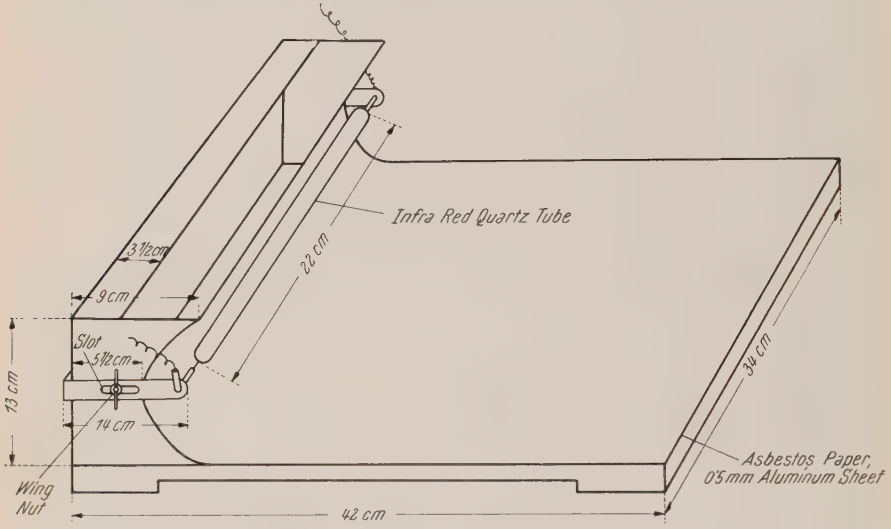


Fig. 1. Constitution of Drying Device

two slotted brackets and secured by a wing nut to allow for proper positioning of the lamp. The lead-in wires of the lamp pass through two 3-mm glass tubings bent at right angles.

Operation of the Apparatus

The infrared lamp is connected to the service line through a variable resistance. The temperature of the drying area is kept within the desired limits by adjusting the resistance and the position of the lamp.

Filter tubes are placed on a wire rack shown in Fig. 2. The rack is 50 mm high at the top tier and 25 mm at the bottom tier, and is 130 mm long and 75 mm wide. When the resistance is set at 75 volts and the nearest edge of the rack is 50 mm from the infrared lamp, the temperature of the space around the filter tubes will be maintained at 115° C $\pm$ 3°. The precipitate is dried by a current of air and several filter tubes may be joined to one aspirator.

Crucibles and filter beakers are placed on a bench 180 mm long, 70 mm wide, and 30 mm high, made from a strip of aluminum 1 mm thick. The aluminum strip is bent at right angles 25 mm from each end.

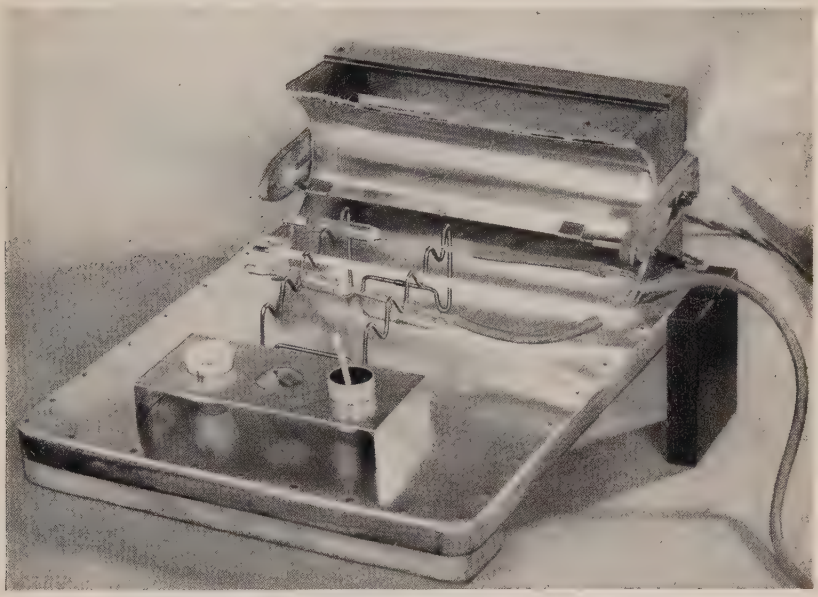


Fig. 2. Drying Device in Use

As shown in Fig. 2, the crucible is kept at a distance of about 10 mm from the base board. This facilitates the drying of the bottom of the crucible. Three rows of crucibles may be dried simultaneously.

Uses

The apparatus has been used for drying silver halides in the filter tube, and barium sulfate in the perforated platinum microcrucible[5]. It has been found that drying for 10 minutes is sufficient, and that exposure of silver halides to infrared light does not affect the accuracy of the results. When the large Gooch crucible is employed and 200 to 300 mg of precipitate is collected, constant weight is obtained in 15 minutes. The same period of drying is required for microbeaker and filterstick as described by *Benedetti-Pichler*[6], and the determination of organic sulfur according to *J. B.* and *V. Niederl*[7], the barium sulfate precipitate in the porcelain crucible and immersion filter being dried by heating at 125° C instead of by ignition.

The apparatus has also served as a convenient drying device in general microchemical operations[8]. Because of its wide surface and the

easy control of temperature, it is a very useful tool for the removal of organic solvents boiling between 30° C and 180° C. It has been used for the rapid concentration of solutions, drying of solids, spot test paper, and paper chromatograms.

Summary

A simple drying apparatus is described. It is made from a 500-watt tubular quartz infrared lamp and a sheet of aluminum which serves as the reflector. The apparatus is suitable for drying precipitates in filter tubes, crucibles, microbeakers with filtersticks; rapid concentration of solutions; drying of solids, spot test papers, and paper chromatograms.

Zusammenfassung

Ein einfacher Trocknungsapparat wird beschrieben. Er besteht zur Hauptsache aus einer 500-Watt-Infrarotlampe mit in einer Quarzröhre angebrachtem Heizdraht und einem Aluminiumblech, das als Hohlspiegel dient. Die Vorrichtung eignet sich zum Trocknen von Niederschlägen in Filterröhrchen, Tiegeln und Mikrobechern mit Filterstäbchen, wie auch für rasches Einengen von Lösungen und Trocknen von festen Stoffen, Tüpfelpapieren und Papierchromatogrammen.

Résumé

Description d'un appareil simple de dessication. Il comporte une lampe tubulaire en quartz de 500 watts à rayons infra-rouge et une feuille d'aluminium qui sert de réflecteur. L'appareil est approprié à la dessication de précipités en tubes filtrants, creusets et microbéchers avec baguettes filtrantes, à la rapide concentration de solutions, à la dessication de solides, de papier d'essais à la touche et de chromatogrammes sur papier.

Literature

[1] *F. Pregl*, Quantitative Organic Microanalysis, translated by *E. Fyleman*. Philadelphia: Blakiston. 1924. p. 61.

[2] *J. Grant*, Quantitative Organic Microanalysis based on the Methods of Fritz Pregl. London: Churchill. 1951. p. 111.

[3] *Al Steyermark*, Quantitative Organic Microanalysis. Philadelphia: Blakiston. 1951. p. 183.

[4] *M. Christensen* and *A. G. Foote*, Nat. Techn. Conf. Illuminating Eng. Soc., September 1955, Cleveland, Ohio, preprint No. 3.

[5] *T. S. Ma, I. Kaimowitz*, and *A. A. Benedetti-Pichler*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 648.

[6] *A. A. Benedetti-Pichler*, Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis. New York: Wiley. 1950. p. 198.

[7] *J. B. Niederl* and *V. Niederl*, Micromethods of Quantitative Organic Analysis, 2nd ed. New York: Wiley. 1948. p. 187.

[8] *T. S. Ma* and *R. F. Sweeney*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 192.

Brooklyn College and Queens College of the College of the City of New York

Heating in a Stream of Oxidizing or Reducing Gas for the Qualitative Analysis of Inorganic Substances*

By

A. A. Benedetti-Pichler and **Herbert E. Schneider**

With 1 Figure

(Received January 30, 1957)

So far, the so-called "dry tests" for the preliminary investigation of samples seem to have been ignored in the practice of qualitative analysis on a small scale. This holds at least in a general way for the microchemical literature of to-day, but it must be acknowledged that the customary dry methods in the hands of experts will give results with milligram quantities of sample. This holds for tests of fusibility and volatility, reduction on the charcoal stick, on charcoal and on the asbestos fiber in the reducing flame of the Bunsen burner[1,2].

The extreme sensitivity of flame tests is generally known. It must be mentioned, however, that bead tests may be given high sensitivity[3] and that various microtechniques for the performance of bead tests on the small scale have been developed[4–6]. In special instances, a variation of the blowpipe technique lends itself to work with microgram quantities[7,8].

This investigation was prompted by the desire to find for work on the small scale a substitute for the blowpipe tests of the mineralogists. Loosely textured carbon is obviously not a good support for very small samples, since the sample itself or the reaction products may get lost in the pores. Consequently it was decided to support the material to be tested by glass and use hydrogen for reducing agent in the place of carbon.

* Dedicated to Prof. *Hans Lieb* on occasion of his 70th birthday.

Extract from a Thesis to be submitted by *Herbert E. Schneider* to the Graduate Division of Brooklyn College in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science. Preliminary reports have been given by *Herbert E. Schneider* at the Meeting in Miniature of the *Metropolitan Long Island Subsection of the New York Section* of the *American Chemical Society*, Hotel Granada, Brooklyn, February 15, 1957, and at the *Twelfth Annual Microchemical Symposium* of the *Metropolitan Microchemical Society of New York* at the American Museum of Natural History, April 26/27, 1957.

Apparatus

If only the solid residue of ignition is of interest, the sample is placed upon a narrow microscope slide of 3- to 5-mm width, which is heated and afterwards cooled in a combustion tube of 5- to 12-mm bore, through which a very slow current of pure hydrogen is passed. Before and after reduction, the slide is placed upon the stage of the microscope for convenient inspection of the material. For observation in reflected light, the slide is placed upon paper having a suitable constrasting color, and

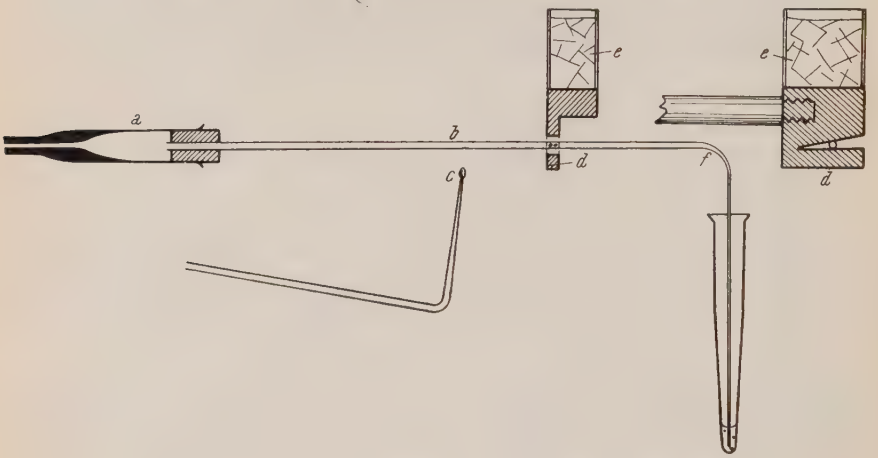


Fig. 1. Heating in the Capillary

a light spot is focused upon the field of vision. Reduction on the slide has been used frequently for preliminary experiments with known substances, and it is often possible to perform a number of simultaneous experiments by placing up to 8 or 12 samples upon one slide. The air must be displaced from the apparatus before the heating may be started; the time required for this operation as well as the time of cooling after reduction is the same whether one or several samples are treated.

Unknowns must be treated separately, and if distillates, sublimates and liberated gases shall be studied, it is preferable to perform the heating of the substance in a capillary.

The heavy-walled tubing *a*, Fig. 1, which supplies the gas, should have a narrow bore so that one gas will displace another within a short time, and it may be equipped with a 3-way stopcock to permit convenient change of gas. If tubing *a* is held in a clamp, the capillary will need no special support after it has been attached by means of a rubber stopper or short piece of rubber tubing as indicated by the illustration.

For the absorption of liberated gases (possibly NH_3, H_2S, SO_2, SO_3, CO_2, NO_2, HF, SiF_4, HCl, HBr, HI, Br_2), the end of the capillary is

drawn out to a bore of about 0.1 mm and bent at a right angle. The opening of the fine capillary is inserted into a droplet of absorbent. When the experiment has been completed, the absorbent is collected in a capillary pipet, from which portions are dispensed for testing with universal indicator (approximate determination of p_H), dilute $KMnO_4$ (if reduction occurs, $BaCl_2$ is added to test for sulfate), KI-starch solution, $AgNO_3$, and $Ba(NO_3)_2$ (NH_3 is added if no precipitate is obtained).

The sample of 0.1 to 1 mg at *b* is first heated with a small microflame to raise the temperature slowly to 100 and 200° C. The burner is best clamped to a simple manipulator or mechanical stand and thus moved with a rack-and-pinion motion while the sample is observed through a horizontal microscope with low objective magnification. If the capillary is rather thick-walled and made of glass of high softening point, the temperature may finally be raised to about 800° C without causing annoying deformation of the tube.

Sublimates usually appear close to the sample. Distillates may be condensed by cooling with a strip of wet filter paper hung over the capillary or more efficiently by an aluminium or copper block *d* with a cup *e* for the cooling mixture (ice and water, ice and salt, dry ice and acetone). If condensation of water on the outside of the apparatus causes trouble, this may be mimimized by blowing a stream of dry air toward *d*.

For the collection of a condensate, the capillary is cut open at *f* and the liquid is taken up with a capillary pipet having a long fine tip. The condensate is tested with universal indicator and the reagents listed above. Water may be identified by determination of melting point and boiling point in the capillary pipet[4].

After removal of the distillate, the end of the capillary is again drawn out to a fine bore and bent at a right angle for the collection of gases that may be liberated in subsequent heating. As an alternative the cut-off tip might be connected (glass-to-glass) by means of a piece of rubber tubing.

At the close of the experiment, the capillary may be cut to separate a residue from a sublimate, where upon the two are separately dissolved and the solutions analyzed. As an alternative, residue and (or) sublimate may be treated in the capillary with gaseous reagents (HCl, Cl_2, NH_3, H_2S, etc.). To this end the capillary is removed from tubing *a* and connected directly to generators of the various reagent gases.

Preliminary Studies

It cannot be expected that the reducing action of a stream of hydrogen could be identical with that of a reducing flame playing on charcoal supporting the material to be tested. Of course, the effect of metathetical exchange of ions with added sodium carbonate will be the same regardless

of the reducing agent; on the small scale, where the mixing of solids is inconvenient, one may moisten the sample with saturated carbonate solution and then dry it cautiously.

A quick survey has shown that the compounds of the alkalies, the alkaline earths, aluminium and manganese are not reduced to the metals, but that compounds of most other common metals are. Sulfate and phosphate are reduced to sulfide and phosphide, respectively, as this also happens on charcoal. Alkali nitrate and nitrites seem to give oxides. The survey is being continued to confirm the listed findings, to clarify the behaviour of some acid radicals, and to include the less common elements.

Practical Applications

For the investigation of small particles it seems best to heat first in a current of air and to follow this, if a residue is left, with heating in a current of hydrogen. One sample gives in this manner the information which is customarily gotten by heating one sample in an open tube and a second one before the blowpipe on charcoal.

It can hardly be disputed that the investigation of small specimens, available in limited numbers, is the most important task of microtechnique. For such tasks, analysis will frequently serve the purpose if it establishes the identity of the specimen. To give an example, it will often suffice finding that the specimen consists mainly of tin dioxide, whereby the presence of minor constituents and traces is of little or no consequence.

In such instances the problem may be completely solved by observation of the behaviour on heating in air and hydrogen. There is usually a residue left, which may be dissolved without difficulty to provide a solution suited for confirmatory tests. Three examples will suffice to indicate the reasoning:

(a) Pale green crystals melt at low temperature. The melt gives off water and, with rising temperature, increasing amounts of SO_3. A dark red residue is left after ignition at about 700° C. Reduction in hydrogen gives water and a black or dark gray magnetic residue: $FeSO_4 \cdot xH_2O$.

(b) A white kernel gives on heating brown fumes which liberate I_2 from KI. The yellow residue is heated in hydrogen and gives water, a bead of a dark gray metal in the place of the yellow residue, and a small condensate of tiny metallic globules: probably $Pb(NO_3)_2$.

(c) A clump of white powder melts at reasonably high temperature to a clear liquid which, on cooling, solidifies to an apparently horny mass. Heating in hydrogen gives a silvery white metal sponge with liberation of HCl: AgCl.

In systematic analysis, heating in air followed by reduction in hydrogen recommends itself for the investigation of the acid insoluble residue. Sulfur and carbon are burned to the dioxides which may be absorbed and identified. The halides of silver, lead sulfate, metastannic and antimonic acids, and ferric oxide are reduced to the metals which may be dissolved in acid for final identification. The sulfates of barium and strontium are reduced to sulfides which are readily soluble in dilute hydrochloric acid. The reduction with hydrogen gas may be carried out with dust particles resting on a narrow slide and should be useful for experimentation on the microgram and submicrogram scales.

Summary

Observation of the phenomena resulting from heating a substance first in air and then in hydrogen is recommended for the preliminary examination of small specimens of inorganic matter. It may permit immediate identification of simple compounds of the heavy metals. Reduction by heating in hydrogen is also recommended for the investigation of acid insoluble residues.

Zusammenfassung

Das Verhalten beim Erhitzen in Luft und dann in einer Wasserstoffatmosphäre eignet sich für die Vorprüfung kleiner Mengen anorganischer Substanz. In einzelnen Fällen können einfache Verbindungen der Schwermetalle daran erkannt werden. Die Reduktion durch Erhitzen in einer Wasserstoffatmosphäre empfiehlt sich ferner für die Untersuchung säureunlöslicher Rückstände.

Résumé

L'observation du phénomène résultant du chauffage d'une substance dans l'air puis dans l'hydrogène est recommandée comme examen préliminaire de petits échantillons minéraux.

Elle peut permettre l'identification immédiate de composés simples des métaux lourds. La réduction par chauffage dans l'hydrogène est également recommandée pour l'examen de résidus insolubles dans les acides.

Literature

[1] *F. P. Treadwell* and *W. T. Hall*, Analytical Chemistry, I. Qualitative Analysis, 9th ed. New York: Wiley. 1937.

[2] *F. P. Treadwell* and *V. Meyer*, Tabellen zur Qualitativen Analyse, 7th ed. Wien: Deuticke. 1912.

[3] *J. Donau*, Mh. Chem. **25**, 915 (1904).

[4] *F. Emich* and *F. Schneider*, Microchemical Laboratory Manual. New York: Wiley. 1932.

[5] *F. Emich*, Lehrbuch der Mikrochemie, 1st ed. München: Bergmann. 1911.

[6] *J. Mika*, Kolloid-Beih. **23**, 309 (1927).

[7] *V. Goldschmidt*, Z. analyt. Chem. **16**, 434, 449 (1877).

[8] *G. Lunde*, Mikrochem. **5**, 16 (1927).

Aus dem Institut für biochemische Technologie und Lebensmittelchemie
und dem Institut für Mikrochemie der Technischen Hochschule Graz

Mikrochemische Bestimmung des Nikotins im Tabak*

Von

G. Gorbach und **H. Kögler**

(Eingegangen am 5. März 1957)

Das Nikotin liegt nach Ansicht einzelner Forscher entweder teils frei *(Schmuck* und *Khmura*[1]*)* oder zur Gänze gebunden an verschiedene Pflanzensäuren *(Wenusch*[2]*)* im Tabak vor. Es kann mit Alkalien, z. B. Magnesiumoxyd[3, 4], Natriumhydroxyd[5], Kaliumcarbonat[6, 7] oder Calciumhydroxyd[8] in Freiheit gesetzt werden; uns erschien dazu nach Literaturstudium das Kaliumcarbonat am geeignetsten. Die freie Base läßt sich aus dem Tabak durch Wasserdampfdestillation[3, 4, 9–12] oder durch Extraktion[9, 13, 14] abtrennen. Wir wählten das Destillationsverfahren, da hierbei weniger Verunreinigungen, Farbstoffe und sonstige Begleitstoffe mit dem Nikotin in die Lösung gelangen.

Die vielfach durchgeführte direkte acidimetrische Titration des Nikotins ist für die Mikrobestimmung überhaupt ungeeignet, da die bei der Makrobestimmung schon spürbaren Fehler infolge des breiten Umschlagsintervalles und des schlecht erkennbaren Umschlagpunktes der bei p_H 5,5 verwendbaren Indikatoren hier noch deutlicher werden.

So wandten wir uns der indirekten Bestimmung nach Fällung des Nikotins zu. Als Fällungsmittel für das Nikotin werden in der Literatur vor allem Kieselwolframsäure und Pikrinsäure angegeben, von denen die Pikrinsäure die größere Selektivität hat. Vor der Nikotinfällung mit Pikrinsäure zugegebene Basen bleiben nach *Pfyl* und *Schmitt*[4] in Lösung.

Aus einer gewöhnlichen basischen Lösung wird das Nikotin mit Pikrinsäure als Dipikrat ausgefällt; nach Neutralisation der Lösung mit 0,1-n Salzsäure fällt hingegen ein Nikotin-monopikrat aus. Diesen Fall wendeten wir bei unserem Verfahren an, indem wir das nikotinhältige Destillat gegen Methylrot mit 0,1-n Salzsäure auf den Neutralpunkt

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

einstellten. Um den richtigen Farbton des umschlagenden Indikators zu erfassen, ist es unbedingt zu empfehlen, sich zum Vergleich eine Standardfarblösung herzustellen; dazu werden 6 Proben einer Nikotinlösung gegen Methylrot mit 0,1-n Salzsäure verschieden weit titriert, so daß die Farbe der einzelnen Proben die Skala von Gelb über Orange nach Rot durchläuft. Danach versetzt man die einzelnen Proben mit festem Kaliumjodid-Kaliumjodat-Gemisch und Stärkelösung und beobachtet nach 15 Minuten die eventuelle Jodausscheidung durch überschüssige Salzsäure. Der Farbton, bei dem sich gerade kein Jod mehr abscheidet, ist orange und wird als der des Äquivalenzpunktes angesehen. Die Verwendung von Bromkresolpurpur als Indikator ist ungünstig, da dessen grüne Eigenfarbe bei der nachfolgenden Titration stört.

Wir führten zahlreiche Modellversuche durch, um über die Reaktionsweise bei den einzelnen Stufen der Mikrobestimmung Aufschluß zu erhalten.

Nikotinbestimmung in verschiedenen Tabaken

Zur Analyse kamen lufttrockene, unfermentierte Mahorcatabake, deren Nikotingehalt bereits von der Österreichischen Tabakregie im Makroverfahren bestimmt worden war.

Um eine richtige Durchschnittsprobe zu bekommen, wurde jeweils ein Probenbündel von 15 bis 20 Tabakblättern in einer Schrottmühle grob zerkleinert, dann nach der Teilkreismethode ein Viertel entnommen und dieses in einer Porzellankugelmühle staubfein gemahlen. Nötigenfalls muß der Tabak vorher einige Stunden bei 50° C im Trockenschrank getrocknet werden. Der Mahlvorgang dauerte je nach der Menge durchschnittlich 1 bis 2 Stunden. Auf die sorgfältige Zerkleinerung und Durchmischung des Probenmaterials ist bei Mikroanalysen besonders zu achten.

Die Analysen werden im allgemeinen mit lufttrockenen Tabaken ausgeführt. Im Zuge der Normierungsbestrebungen zur Nikotinbestimmung schlug *Waser*[6] vor, die Werte der Analysen auf einen bei 50° getrockneten Tabak zu beziehen. Dementsprechend bestimmten wir die Trockensubstanz aus der Gewichtsdifferenz des lufttrockenen und dann bei 50° C bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Tabakes an rund 2 g Probe. Zur Nikotinbestimmung selbst wurden dann ungefähr 10 mg lufttrockenen Tabakes auf der Gorbachschen Mikrotorsionswaage[15] mit einem Aluminiumlöffelchen gewogen, in das Destillationskölbchen gefüllt und das Löffelchen mit dem noch anhaftenden Tabakstaub zurückgewogen; von dieser Einwaage wird nun die vorher bestimmte Feuchtigkeit abgezogen, wobei sich die Trockensubstanz als Basis zur Berechnung des Nikotingehaltes ergibt.

Zu der im Destillationskölbchen befindlichen Probe (10 mg) fügt man zur Alkalisierung 400 μl einer 20%igen Kaliumcarbonatlösung und 200 μl

einer 25%igen Natriumchloridlösung. Um das Nikotin völlig in Freiheit zu setzen, läßt man die Probe vor der Destillation noch 10 Minuten stehen. Zur Destillation wurde die Mikrodestillationsapparatur nach *Gorbach*[15] verwendet; als Destillationskölbchen dient in diesem Fall ein Rundkölbchen, da der Tabak stark schäumt. Wir führen an Stelle der Wasserdampfdestillation eine gewöhnliche Destillation unter Durchleiten von Luft aus einem Kippschen Apparat durch, um die Menge des Destillates möglichst niedrig zu halten. In einigen Minuten ist die Destillation beendet und das Nikotin quantitativ übergeführt. Als Heizquelle ist in diesem Fall der Mikrogasbrenner dem elektrischen Heizblock vorzuziehen, weil bei dem spontan auftretenden Schäumen die Wärmezufuhr leicht und rasch reguliert werden kann. Bei fermentierten Tabaken, die weniger schäumen, kann auch der elektrische Heizblock verwendet werden.

Zur Neutralisation wird das Destillat mit 2 Tropfen Methylrot versetzt und gegen eine genau eingestellte Standardfarblösung mit 0,1-n Salzsäure aus einer Mikrobürette nach *Gorbach*[15] auf Orange titriert.

Darauf fällt man das Nikotin mit Pikrinsäure aus, wobei in allen Fällen bei einer Einwaage von 10 mg Tabak 200 μl 1%iger Pikrinsäurelösung zur quantitativen Abscheidung ausreichen; diese wird mit einer 200 μl fassenden Pregl-Auswaschpipette hinzugefügt und 2 bis 3mal mit je 2 Tropfen ausgekochten destillierten Wassers nachgewaschen, bis das Waschwasser nicht mehr gelb gefärbt ist. Das Nikotinpikrat fällt rascher und quantitativ aus, wenn man das Reaktionsgemisch auf 2 bis 3 Stunden in den Eiskasten stellt. Nach dieser Zeit ist der Niederschlag schön kristallin und hat sich am Boden des Spitzröhrchens abgesetzt.

Nun wird zentrifugiert und dann mittels der hier erstmals angewendeten Papierfilterscheibchen[15] und einer Filtrierglocke die überschüssige Pikrinsäure in einen Schliffspitzbecher abgesaugt. Man wäscht den Niederschlag mit einem Tropfen eisgekühlten Wassers aus, saugt nochmals ganz trocken und wäscht dann nach Entfernen des Filterpapierscheibchens das Kapillarsystem durch Durchsaugen von ausgekochtem destilliertem Wasser aus, bis das Waschwasser farblos ist. Mit einem zu einem Löffelchen geformten Mikrorührstäbchen fügt man dann etwas feinst gepulvertes Kaliumjodid-Kaliumjodat-Gemisch zu der Pikrinsäurelösung und läßt diese 10 Minuten gut verschlossen im Dunkeln stehen, bevor man mit 0,1-n Thiosulfatlösung titriert. Wenn sich die braune Farbe des ausgeschiedenen Jods gegen Ende der Titration aufzuhellen beginnt, setzt man 2 Tropfen Jodlösung zu und titriert fertig bis zum Umschlag nach Gelb.

Zum Blindversuch werden 200 μl Pikrinsäure in einem Schliffspitzbecher mit festem Kaliumjodid-Kaliumjodat-Gemisch versetzt und in gleicher Weise unter Zugabe von Stärke mit 0,1-n Thiosulfatlösung

titriert. Die Differenz der beiden Titrationen ergibt die Pikrinsäuremenge, die im Niederschlag gebunden ist; daraus läßt sich nach folgender Formel der Nikotingehalt berechnen:

$$\% \text{ Nikotin} = \frac{(a-b) \cdot F \cdot 100}{E}.$$

a = μl 0,1-n Thiosulfatlösung, die zur jodometrischen Bestimmung der vorgelegten 200 μl Pikrinsäure verbraucht werden.

b = μl 0,1-n Thiosulfatlösung, die zur jodometrischen Bestimmung der nach der Fällung überschüssigen Pikrinsäure verbraucht werden.

F = Faktor = 0,0162.

E = Die auf Trockensubstanz berechnete Einwaage.

Bei den drei von uns untersuchten Tabaksorten ergab sich bei zweien der von der Tabakregie angegebene Wert von 5,86% bzw. 11,64% Nikotin als Mittelwert aus je 6 Bestimmungen (mittlerer Fehler $\pm$ 0,12%). Bei der dritten Probe erhielten wir einen Mittelwert von 11,77% Nikotin; 11,86% war von der Tabakregie angegeben.

Diese Arbeit wurde mit Mitteln der Österreichischen Tabakregie durchgeführt. Für diese Mittel wie auch für die zur Verfügung gestellten Proben sagen wir an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank.

Zusammenfassung

Es wurde eine Mikrobestimmung von Nikotin in Tabak auf jodometrischer Basis ausgearbeitet, die die Genauigkeit der Makrobestimmungen erreicht. Unter Verwendung der am Institut entwickelten Mikrogeräte wird das Nikotin nach Alkalisierung und Destillation mit Pikrinsäure ausgefällt und anschließend der Überschuß an Pikrinsäure jodometrisch bestimmt. Die Dauer der Bestimmung konnte bei einer Einwaage von 10 mg Tabak auf 4 bis 5 Stunden herabgesetzt werden.

Summary

A method was worked out for an iodometric microdetermination of nicotine in tobacco, which attains the accuracy of the macrodetermination. By means of the micro apparatus developed in this laboratory, the nicotine, after alkalization and distillation, is precipitated with picric acid and then the excess of picric acid is determined iodometrically. With a sample of 10 mg of tobacco, the time required was reduced to 4 to 5 hours.

Résumé

Elaboration d'une méthode de microdétermination de la nicotine dans le tabac, fondée sur l'iodométrie, et dont la précision atteint celle des macrodéterminations. L'emploi d'appareils microchimiques mis au point à l'Institut, permet de précipiter la nicotine par l'acide picrique après alcalinisation et de doser iodométriquement l'excès d'acide picrique. Pour une pesée d'essai de 10 mg de tabac, la durée de la détermination peut être réduite à 4 à 5 heures.

Literatur

[1] *A. A. Schmuck* und *M. Khmura*, Krassnodar Bull. **69**, 69 (1930).
[2] *A. Wenusch*, Fachl. Mitt. Österr. Tabak-Regie **4**, 9 (1930).
[3] *B. Pfyl* und *O. Schmitt*, Z. Unters. Lebensmittel **54**, 60 (1927).
[4] *P. König* und *W. Dörr*, Z. Unters. Lebensmittel **67**, 113 (1934).
[5] *J. Bodnar* und *L. Nagy*, Z. Unters. Lebensmittel **73**, 191 (1937).
[6] *E. Waser* und *M. Stähli*, Acta Nicotiana **2**, 93 (1940).
[7] *C. Pyriki*, Acta Nicotiana **2**, 116 (1940).
[8] *Mellet*, Schweiz. Wschr. Chem. Pharm. **49**, 117 (1911).
[9] *H. B. Rasmussen*, Z. analyt. Chem. **55**, 92 (1916).
[10] *Z. Staikoff*, Z. Unters. Lebensmittel **84**, 492 (1942).
[11] *R. Hofmann*, Biochem. Z. **260**, 26 (1933).
[12] *G. Bertrand* und *M. Chevallier*, Bull. sci. pharmacol. **16**, 7 (1909).
[13] *L. Frank*, Chem.-Ztg. **51**, 658 (1927).
[14] *J. Bodnar* und *L. Nagy*, Z. Unters. Lebensmittel **67**, 598 (1934).
[15] *G. Gorbach*, Mikrochemisches Praktikum. Heidelberg: Springer-Verlag. 1956.

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Wien

Über den Nachweis und die Bestimmung von Pervitin*

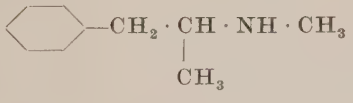
Von

M. Weiser und **M. K. Zacherl**

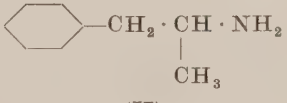
Mit 5 Abbildungen

(Eingegangen am 22. März 1957)

Im Rahmen der veterinärchemischen Aufgaben unseres Institutes waren im Laufe der letzten Jahre mehrmals Vergiftungsfälle bei Tieren aufzuklären, bei denen sich Weckamine als Vergiftungsursache nachweisen ließen. Bei jedem einzelnen dieser Fälle konnten wir feststellen, daß sich solche Gifte bei Durchführung des üblichen Arbeitsganges nach *Stas* und *Otto* zur Auffindung synthetisch-organischer Gifte dem Nachweis entzogen, da diese Amine mit Dämpfen organischer Lösungsmittel flüchtig sind und infolgedessen beim Eindampfen ätherischer oder chloroformischer Extrakte nicht im Rückstand verbleiben. Auf diese Tatsache hat schon *Rathenasinkam*[1] hingewiesen und einen Arbeitsgang angegeben, der auf dieses Verhalten der Weckamine Rücksicht nimmt. Wie unsere Erfahrungen zeigen, kommen als Weckamine beim Dopen von Rennpferden, aber auch als Todesursache bei vorsätzlichen Vergiftungen von Kleintieren vor allem Pervitin (I) und Benzedrin (Amphetamin) (II) in Betracht.



(I)



(II)

Die Möglichkeit, diese beiden in ihrer pharmakologischen Wirkung sehr ähnlichen Gifte auf chemischem Wege zu unterscheiden, ist daher von einiger Bedeutung, da gegebenenfalls die Ahndung solcher Vorkommnisse

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag in dankbarer Verehrung gewidmet.

eine eindeutige Aufklärung durch den Chemiker zur Voraussetzung hat. Oft wird es hierbei aber nicht möglich sein, aus tierischem Untersuchungsmaterial größere Mengen des Giftstoffes in reiner Form zu isolieren und durch Bestimmung des Schmelzpunktes zu identifizieren. In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß Pervitinhydrochlorid bei 174° schmilzt und Benzedrinhydrochlorid bei 148 bis 149°. Der in den Koflerschen Tabellen[5] für Benzedrinhydrochlorid angegebene Schmelzpunkt ist unrichtig. Mit Rücksicht auf die Notwendigkeit, sehr kleine, aus tierischem Untersuchungsmaterial isolierte Aminmengen nicht nur zu identifizieren, sondern wenn möglich auch quantitativ zu bestimmen, schien uns der Weg über eine geeignete Farbreaktion am ehesten erfolgversprechend.

Zum Nachweis des Benzedrins (Amphetamins) gibt *Rathenasinkam*[1] eine Reihe von Farbreaktionen und Fällungsreaktionen auf dem Objektträger an. Unter jenen ist an erster Stelle die Farbreaktion mit Marquisschem Reagens angeführt, womit Benzedrin unter Ziegelrotfärbung reagiert, die über Braun schließlich in ein schmutziges Olivgrün übergeht. Adrenalin und Ephedrin reagieren unter Entwicklung anderer Färbungen, aber *Rathenasinkam*[1] führt nicht an, daß sich Pervitin und Benzedrin bei der Marquisschen Reaktion gleichartig verhalten. Eine von *Rathenasinkam* zunächst für den Nachweis des Cocains angegebene, auf Nitrierung beruhende Farbreaktion ist nach den Angaben des Autors auch für Benzedrin geeignet. Auch hier aber vermissen wir den Hinweis, daß eine Unterscheidung zwischen Pervitin und Benzedrin mit Hilfe dieser Reaktion nicht möglich ist, da beide Amine mit annähernd gleicher Empfindlichkeit unter Violettfärbung reagieren. *Beyer* und *Skinner*[6] empfehlen zum Nachweis von Benzedrin im Harn dessen Kupplung mit diazotiertem p-Nitranilin. Nach Alkalisieren wird der entstandene rote Farbstoff mit n-Butanol ausgeschüttelt. Diese Reaktion wird von Pervitin nicht gegeben, eignet sich also für den eindeutigen Nachweis von Benzedrin. Eine von *Vidic*[2] angegebene Farbreaktion des Pervitins beruht auf der Komplexbildung mit Bromkresolgrün, hat aber den Nachteil, nicht sehr empfindlich zu sein, da sich nach den Angaben des Autors erst Mengen von 50 bis 400 μg pro 10 ml nachweisen lassen. Eine Steigerung der Empfindlichkeit dieses Verfahrens und gleichzeitig die Unterscheidung verschiedener Weckamine konnte *Vidic*[12] auf Grund der Tatsache erzielen, daß die mit Dichlormethan in Form ihrer Bromkresolgrün-Addukte extrahierbaren Weckaminanteile nicht nur von der Natur der Amine, sondern auch vom pH-Wert der wässrigen Lösung stark abhängig sind. *Graf*[3] führt weiters eine Reihe von Farbreaktionen für Weckamine an, die in erster Linie zur Untersuchung pharmazeutischer Präparate, nicht aber zum Nachweis in Organmaterial oder in Exkreten geeignet sind, da der Giftnachweis in solchen Fällen wegen der in Betracht kommenden Mengen in der

Größenordnung von wenigen Mikrogramm auf hochempfindliche Reaktionen angewiesen ist. *Cavicchi-Sandri*[4] berichtet über die Unterscheidung von Pervitin und Benzedrin mit Hilfe von Fällungsreaktionen mit Kaliumwismutjodid bzw. mit Bromwismutsäure, wobei charakteristische Kristallformen erhalten werden. Auch *Vidic*[2] führt den Nachweis von Pervitin mit Hilfe einer Kristallfällungsreaktion durch, indem er alkalischen Harn am Wasserbad erwärmt und die entweichende Base auf einen hängenden Tropfen einer Platinchlorwasserstoffsäurelösung einwirken läßt, wobei Pervitinchloroplatinat in charakteristischen Kristallformen ausfällt. Auf diese Art lassen sich 5 μg Pervitin in 10 ml Harn nachweisen.

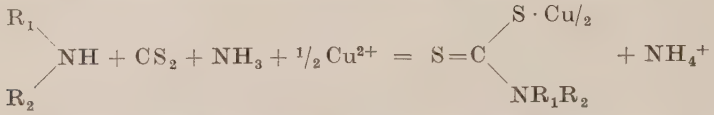
Im Hinblick auf die quantitative Bestimmung des Pervitins schien uns jedoch, wie erwähnt, eine photometrisch auswertbare Farbreaktion besser geeignet.

Zur Unterscheidung primärer und sekundärer Amine geben *Feigl* und *Anger*[7] eine Reaktion mit Nitroprussidnatrium und Acetaldehyd in soda-alkalischer Lösung an, die bei sekundären Aminen zur Bildung blauvioletter, löslicher Verbindungen unbekannter Konstitution führt, die aber auf primäre und tertiäre Amine nicht anspricht. Die Empfindlichkeit dieser Reaktion wird offenbar von anderen Gruppen des Moleküls beeinflußt. *Cullis* und *Waddington*[13] haben die Reaktion als Grundlage einer kolorimetrischen Bestimmungsmethode sekundärer aliphatischer Amine verwendet und dabei festgestellt, daß die optische Dichte der Farblösungen sehr erheblich von der Entwicklungszeit abhängig ist. Für Pervitin gibt *Feigl*[8] eine Erfassungsgrenze von 10 μg an. Wir können bestätigen, daß Benzedrin als primäres Amin mit Nitroprussidnatrium und Acetaldehyd keine Farbreaktion gibt.

Zum Nachweis des Kupfers und anderer Metallionen wird seit langem Natriumdiäthyldithiocarbamat verwendet, das mit einer großen Anzahl von Metallen weiße bzw. mehr oder weniger stark gefärbte Salze bildet, die in einer Reihe organischer Lösungsmittel sehr gut löslich sind und sich nicht nur zum qualitativen Nachweis, sondern auch — z. B. im Falle des Kupfers — zur kolorimetrischen Bestimmung sowie im Wege der Extraktion zur Anreicherung von Spuren eignen. *Malissa*[9] berichtete über die analytische Verwendung anderer disubstituierter Dithiocarbamate und konnte dabei hohe Empfindlichkeiten für zahlreiche Metallionen feststellen.

Da sich Dithiocarbamate bei Gegenwart von Ammoniak aus Schwefelkohlenstoff und sekundären Aminen darstellen lassen, lag es nach dem Prinzip der analytischen Gruppenwirkung nahe, die Farbreaktion solcher Verbindungen mit Kupfer auch zum Nachweis sekundärer Amine heranzuziehen. Nach den Angaben von *Feigl*[10] reagieren sekundäre aliphatische Amine und sekundäre cyklische Amine mit Schwefelkohlenstoff und

ammoniakalischer Kupfersulfatlösung unter Bildung brauner, wasserunlöslicher Kupfersalze der entsprechenden Dithiocarbamate:



Diese Kupfersalze sind in Benzol, Chloroform usw. löslich und können daher aus wäßrigen Lösungen extrahiert werden, deren Konzentration so gering ist, daß es zu keiner Ausfällung von Kupferdithiocarbamat kommt. Nach den Angaben *Feigls*[8] zeigen primäre und tertiäre aliphatische Amine diese sehr empfindliche Reaktion unter den von ihm angegebenen Bedingungen nicht. Während *Feigl*[8] angibt, 5 μg Pervitin durch Bildung des Kupferdithiocarbamats nachweisen zu können, führt er Benzedrin als Beispiel eines primären Amins an, das keine Kupferdithiocarbamat-Reaktion gibt. Dem stehen Angaben von *Nebbia* und *Guerrieri*[11] gegenüber, daß primäre Amine zwar langsamer, aber in alkalischer Lösung dennoch unter Bildung von Nickeldithiocarbamaten mit Schwefelkohlenstoff reagieren. Wir konnten feststellen, daß sowohl Pervitin wie Benzedrin bei Gegenwart von Benzol oder Chloroform mit Schwefelkohlenstoff und ammoniakalischer Kupfersulfatlösung unter Gelbbraunfärbung des Benzols bzw. Chloroforms zwar mit verschiedener Intensität, aber doch deutlich reagieren, daß sich also die Dithiocarbamatbildung in dieser Form zur Unterscheidung der beiden in ihrer pharmakologischen Wirkung sehr ähnlichen Amine nicht gut eignet. *Nebbia* und *Guerrieri*[11] haben darauf hingewiesen, daß das Nickeldithiocarbamat des primären Methylamins im Gegensatz zu dem des sekundären Dimethylamins in Alkalien löslich ist. In gleicher Weise unterscheiden sich auch die Kupferdithiocarbamate des Pervitins und des Benzedrins. Jenes ist in chloroformischer Lösung gegen die Einwirkung von Alkalilaugen resistent, während das Kupferdithiocarbamat des Benzedrins aus der chloroformigen Lösung durch Ausschütteln mit Alkalien fast vollständig entfernt werden kann, so daß die Farbreaktion mit Schwefelkohlenstoff und Kupfersulfat eine geeignete Grundlage nicht nur zum Nachweis, sondern auch zur quantitativen Bestimmung des Pervitins bietet, wenn die entstehende Färbung vor der spektrophotometrischen Messung mit Alkalien behandelt wird. Unter diesen Umständen lassen sich geringere Pervitinmengen erfassen, als mit Hilfe der Reaktion mit Nitroprussid und Acetaldehyd.

Da es sich bei der Dithiocarbamatbildung keinesfalls um eine für Pervitin spezifische Reaktion handelt, sondern nur um eine Möglichkeit der Unterscheidung zwischen primären und sekundären Aminen, war die Frage zu klären, ob bei der Aufarbeitung tierischen Organmaterials oder tierischer Exkrete mit der Anwesenheit störender Amine zu rechnen

ist. Allerdings ist hierbei zu berücksichtigen, daß nur solche biogene Amine in Betracht kommen, die bei alkalischer Reaktion mit Wasserdampf flüchtig sind. Die dadurch gegebene Selektivität der Dithiocarbamatreaktion schränkt die Anzahl zu berücksichtigender Amine offenbar so weit ein, daß keine nennenswerte Beeinträchtigung des Pervitinnachweises zu befürchten ist.

Dies konnte in der Weise festgestellt werden, daß einmal 480 g frische Hundeorgane, das andere Mal 520 g stark in Fäulnis übergegangenes Organmaterial nach der von *Rathenasinkam*[1] angegebenen Vorschrift zum Nachweis von Amphetamin in Eingeweiden verarbeitet wurden. Die hierbei schließlich erhaltenen, wäßrigen Lösungen geben mit Schwefelkohlenstoff und Kupferacetat in Gegenwart von Ammoniak eine deutliche Gelbfärbung der Chloroformschicht, die jedoch nach Schütteln mit 10%iger Natronlauge so weitgehend verschwindet, daß letzten Endes eine Extinktion von 0,048 bzw. 0,036 gemessen wurde. Diese Blindwerte entsprechen 4 bzw. 3 μg Pervitin, fallen also praktisch nicht ins Gewicht, da im Ernstfall wohl immer mit größeren Mengen dieses Giftstoffes zu rechnen sein wird.

Experimenteller Teil

Für die spektrophotometrische Messung verwenden wir ein Unicam Spektralphotometer SP 500 mit Spannungsstabilisator für die Wolframlampe. Die Farblösungen wurden in geeichten 10-mm-Küvetten aus Glas (Inhalt zirka 4 ml) gemessen.

Reagenzien

Salzsäure, 0,1-n.

Kupferacetat-Schwefelkohlenstoff-Reagens: 0,5 ml 1%ige alkoholische Kupferacetatlösung werden in einem 25-ml-Meßkölbchen mit 7 ml Schwefelkohlenstoff und 1 ml Eisessig versetzt und mit Alkohol aufgefüllt.

Chloroform, DAB 6.

Ammoniak, konz. ($d = 0{,}91$).

Pervitin-Stammlösung:* 0,248 g Pervitinhydrochlorid wurden in 100 ml 0,1-n Salzsäure gelöst (1 ml $\equiv$ 2 mg Pervitinbase). Von dieser Stammlösung wurden verd. Lösungen im Verhältnis 1 : 100 bzw. 1 : 1000 durch Zusatz von 0,1-n Salzsäure jeweils frisch bereitet.

*Benzedrin-Stammlösung**:* 53,96 mg Benzedrinhydrochlorid wurden in 50 ml 0,1-n Salzsäure gelöst (1 ml $\equiv$ 850 μg Benzedrinbase).

---

* Für die Überlassung eines Pervitinpräparates danken wir der Firma Gerot, Wien.

** Für die Überlassung von Benzedrinpräparaten danken wir Frau Prof. *M. Kuhnert-Brandstätter*, Innsbruck.

*Absorptionsspektrum des Kupfer-Pervitindithiocarbamates**

2 ml der im Verhältnis 1 : 100 verd. Pervitin-Stammlösung (≡ 40 μg Pervitinbase) wurden in einem Schütteltrichter mit 8 ml Wasser verdünnt, 3 ml Chloroform, 0,1 ml Reagens und 3 ml konz. Ammoniak zugesetzt und 7 Minuten kräftig geschüttelt. Die Chloroformphase wurde abgetrennt, die wäßrige Phase nochmals mit 1 ml Chloroform gewaschen; das Chloroform wurde mit der Hauptmenge vereinigt, einmal mit 4 ml Wasser gewaschen, mit etwas Natriumsulfat getrocknet und in die Küvette dekantiert. Die gefärbte Lösung wurde sodann im Spektralbereich zwischen 350 und 800 mμ gegen reines Chloroform als Vergleichslösung gemessen. Aus der Abb. 1 ergibt sich die Lage des Absorptionsmaximums bei 438 mμ. Die Extinktion der Lösung veränderte sich im Bereich des Absorptionsmaximums innerhalb von 12 Stunden nicht.

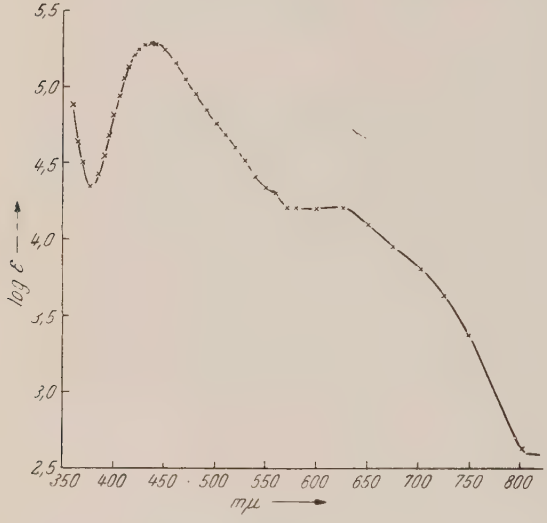


Abb. 1

Abhängigkeit der Extinktion von der Ammoniakkonzentration

Unter Verwendung von jeweils 1 ml der 1 : 100 verd. Pervitin-Stammlösung wurde die oben beschriebene Farbreaktion mit steigenden Mengen Ammoniak durchgeführt, um die Abhängigkeit der Extinktion von der jeweiligen Ammoniakkonzentration zu untersuchen. Die graphische Darstellung der Abb. 2 zeigt, daß bei Zusatz von 3 ml Ammoniak zum Reaktionsgemisch die maximale Extinktion erreicht ist und sich auch bei Zusatz größerer Mengen nicht ändert.

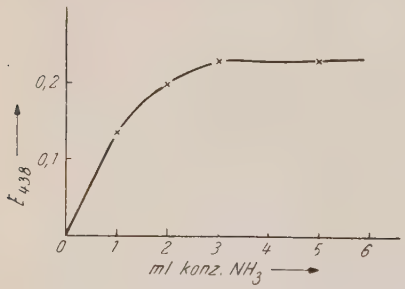


Abb. 2

* Diese vielfach übliche Bezeichnung sollte richtig lauten: „Kupfersalz des Dithiokohlensäure-N-Methyl-β-phenylisopropylamids".

Abhängigkeit der Extinktion von der Menge Schwefelkohlenstoff und Kupferacetat

Jeweils 1 ml der 1 : 100 verd. Pervitinlösung (≡ 20 μg Pervitinbase) wurden mit steigenden Mengen Schwefelkohlenstoff, gleichbleibenden Mengen Kupferacetatlösung [≡ 0,2 mg $Cu(CH_3COO)_2 \cdot H_2O$] und 3 ml konz. Ammoniak zur Reaktion gebracht. Die Abb. 3 zeigt, daß das Maximum der Extinktion erreicht wird, wenn mindestens 7 ml Schwefelkohlenstoff zur Herstellung von 25 ml Reagenslösung verwendet werden.

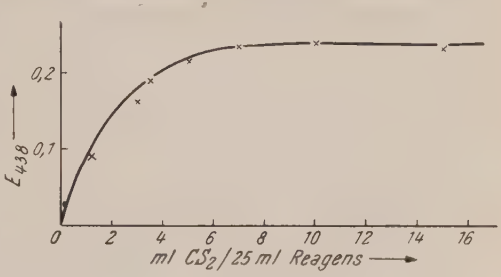


Abb. 3

Zur Untersuchung der Abhängigkeit der Farbreaktion von der Kupferkonzentration des Reagens wurde jeweils 1 ml verd. Pervitin-Stammlösung (≡ 20 μg Pervitinbase) unter Einhaltung der optimalen Schwefelkohlenstoff- und Ammoniakkonzentration mit steigenden Kupferacetatmengen zur Reaktion gebracht; aus der Kurve der Abb. 4 ist zu entnehmen, daß 25 ml Reagens wenigstens 0,3 ml 1%iger alkoholischer Kupferacetatlösung enthalten müssen, um maximale Extinktion zu erreichen. Diese Kupfermenge entspricht bei Verwendung von 0,1 ml Reagens und 20 μg Pervitinbase annähernd dem stöchiometrischen Verhältnis der Farbreaktion.

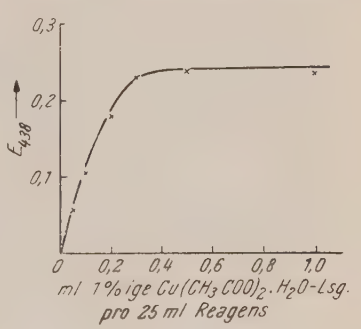


Abb. 4

Abhängigkeit der Extinktion vom Volumen der Probelösung

Jeweils 1 ml 1 : 100 verd. Pervitin-Stammlösung wurden mit 0,1 ml Reagens und steigenden Mengen dest. Wasser (maximal 9 ml) unter Einhaltung der erforderlichen Ammoniakkonzentration zur Reaktion gebracht, mit 3 ml Chloroform ausgeschüttelt und wie üblich mit 1 ml Chloroform nachgewaschen. Die gemessenen Extinktionswerte lagen durchwegs auf gleicher Höhe, woraus sich deren Unabhängigkeit von dem jeweiligen Volumen der Probelösung ergibt.

Ermittlung der Eichkurve

Nachdem in den vorhergehenden Versuchen die optimale Zusammensetzung der Reagenslösung und die geeignete Ammoniakkonzentration ermittelt waren, wurde die Abhängigkeit der Extinktion von der jeweiligen

Pervitinkonzentration geprüft und die Eichkurve festgelegt. Zu diesem Zweck wurden steigende Pervitinmengen zwischen 0 und 80 μg in 10 ml 0,1-n Salzsäure gelöst und mit 0,5 ml Reagens und 3 ml Ammoniak bei Gegenwart von 3 ml Chloroform zur Reaktion gebracht. Mit dieser Reagensmenge ist jedenfalls die zum quantitativen Reaktionsverlauf erforderliche Kupfer- und Schwefelkohlenstoffmenge gewährleistet. Die Bildung des gefärbten Kupferkomplexes ist innerhalb einer Minute vollständig. Die gemessenen Extinktionen wurden gegen die jeweils angewandten Pervitinmengen aufgetragen; als Vergleichslösung diente Chloroform.

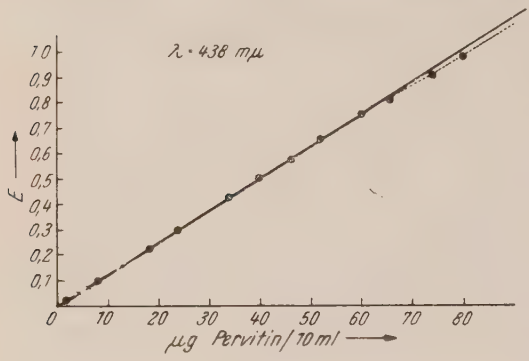


Abb. 5

Die Eichkurve verläuft für Pervitinmengen zwischen 0 und 80 μg geradlinig (siehe Abb. 5).

Nachweis und Bestimmung von Pervitin neben Benzedrin

Benzedrin gibt mit Kupfersalzen und Schwefelkohlenstoff bei Gegenwart von Ammoniak eine dem Pervitin sehr ähnliche Farbreaktion. Die entstehende Farbe ist aber gegen die Einwirkung starker Lauge nicht resistent. Schüttelt man die Chloroformlösung mit 10%iger Natronlauge, so bleibt die Färbung bestehen, wenn sie durch Pervitin verursacht war; sie verschwindet aber, wenn sie durch Benzedrin oder andere primäre Amine bedingt war. Dieses Verhalten bietet nicht nur die Grundlage zur qualitativen Unterscheidung der beiden Weckamine, sondern auch für die quantitative Bestimmung von Pervitin neben Benzedrin, wie aus den Angaben der Tabelle 1 zu entnehmen ist.

Tabelle 1

Benzedrin μg	Pervitin gegeben μg	Pervitin gefunden μg	Fehler in %
170	10	10,0	± 0
204	20	20,5	+ 2,5
510	40	41	+ 2,5
680	60	59,5	— 0,8

Arbeitsvorschrift

Das auf Pervitin und Benzedrin zu prüfende Organmaterial (bzw. Exkret) wird zunächst nach *Stas* und *Otto* aufgearbeitet, das heißt durch Alkoholfällung von Ballaststoffen soweit als möglich befreit. Die schließ-

lich hierbei erhaltene wäßrige Lösung wird mit Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion versetzt, mit Kochsalz gesättigt und einer Wasserdampfdestillation unterzogen. Das Destillat wird in 50 ml 0,5-n Salzsäure aufgefangen, bis ein Volumen von 400 ml erreicht ist. Die salzsaure Lösung wird am Wasserbad auf 100 ml eingeengt und mit Äther ausgeschüttelt. Die ausgeätherte, salzsaure Lösung macht man mit Natronlauge alkalisch und schüttelt zweimal mit Chloroform aus. Die chloroformische Lösung wird mit wenig Wasser gewaschen und mit 10 ml 0,1-n Salzsäure ausgeschüttelt. Die salzsaure Lösung wird zunächst am Wasserbad von Chloroform befreit und in einem 25-ml-Meßkölbchen mit 0,1-n Salzsäure aufgefüllt. Ein kleiner Teil dieser Lösung wird zur Trockne verdampft und mit Marquisschem Reagens (Formaldehyd-Schwefelsäure) auf die Anwesenheit von Weckaminen geprüft. Bei positivem Ausfall der Reaktion wird ein aliquoter Teil der salzsauren Lösung zur qualitativen und quantitativen Untersuchung auf Benzedrin nach den Angaben von *Rathenasinkam*[1] bzw. *Beyer* und *Skinner*[6] verwendet. Weitere 10 ml der salzsauren Lösung versetzt man mit 0,5 ml Kupferacetat-Schwefelkohlenstoff-Reagens, 3 ml Ammoniak und 3 ml Chloroform und schüttelt eine Minute. Das Ausschütteln wird mit 1 ml Chloroform wiederholt, die Chloroformextrakte vereinigt und, wenn sie gelbbraun gefärbt sind, zuerst mit 6 ml 0,1-n Salzsäure und dann zweimal mit 5 ml 10%iger Natronlauge je eine Minute geschüttelt. Bleibt die gelbbraune Färbung der Chloroformlösung bestehen, so ist hiermit Pervitin nachgewiesen. Die Extinktion der Lösung wird nach einmaligem Waschen mit 4 ml dest. Wasser und Trocknen über wenig Natriumsulfat bei 438 mμ im Spektralphotometer gemessen. Mit Hilfe des Extinktionswertes ist aus der Eichkurve die in 10 ml salzsaurer Lösung enthaltene Pervitinmenge zu entnehmen. Nach diesen Angaben läßt sich Pervitin auch neben der mehrfachen Menge Benzedrin mit einer Genauigkeit von $\pm$ 2,5% bestimmen.

Zusammenfassung

Es wird ein Verfahren zum qualitativen Nachweis und zur spektrophotometrischen Bestimmung kleiner Mengen Pervitin in tierischem Untersuchungsmaterial angegeben; die hierzu verwendete Farbreaktion beruht auf der Umsetzung des sekundären Amins mit Kupferacetat und Schwefelkohlenstoff bei Gegenwart von Ammoniak, wobei sich das Kupfersalz des Dithiokohlensäure-N-Methyl-β-phenylisopropylamids bildet. Da diese Reaktion an sich für Pervitin nicht spezifisch ist, prüft man den Organextrakt zuvor mit Formalin-Schwefelsäure; eine hierbei auftretende Ziegelrotfärbung, die sich über Braun nach Olivgrün verändert, zeigt die Anwesenheit von Pervitin oder Benzedrin an. Das Verhalten des Kupferkomplexes gegen starke Lauge ermöglicht die

Unterscheidung dieser beiden Weckamine und die quantitative Bestimmung von Pervitin auch neben der mehrfachen Menge Benzedrin.

Summary

A method is given for the detection and spectrophotometric determination of small amounts of pervitine in animal materials. The color reaction employed is based on the reaction of the secondary amine with copper acetate and carbon disulfide in the presence of ammonia. The product is the copper salt of dithiocarbonic acid-N-methyl-β-phenylisopropyl-amide. Since this reaction per se is not specific for pervitine, the organ extract is tested beforehand with formalin-sulfuric acid; a brick-red color, which goes through brown to olive-green shows the presence of pervitine or amphetamine. The behavior of the copper complex toward strong base makes it possible to distinguish between these two anti-soporific amines and also the quantitative determination of pervitine even in the presence of considerable amounts of amphetamine.

Résumé

Description d'une méthode d'identification qualitative et de détermination spectrophotométrique de petites quantités de pervitine dans des substances d'origine animale; la réaction colorée employée à cette fin repose sur la transformation de l'amine secondaire par l'acétate de cuivre et le sulfure de carbone en présence d'ammoniac avec formation du sel de cuivre de la N-méthyl-β-phényl isopropylamide de l'acide dithiocarbonique. Cette réaction n'étant pas spécifique pour la pervitine, on traite au préalable l'extrait d'organe par le réactif formaline-acide sulfurique; l'apparition d'une coloration rouge brique qui passe au brun puis au vert olive indique la présence de pervitine ou de benzedrine. La façon dont réagit le complexe de cuivre sur une lessive alcaline concentrée, permet de différencier ces deux amines de réveil et de déterminer quantitativement la pervitine même en présence de quantités plusieurs fois supérieurs de benzédrine.

Literatur

[1] *E. Rathenasinkam*, Analyst **77**, 135 (1952).
[2] *E. Vidic*, Klin. Wschr. **23**, 223 (1952).
[3] *E. Graf*, Pharmazie **5**, 108 (1950).
[4] *G. Cavicchi-Sandri*, Mikrochim. Acta [Wien] **1956**, 244.
[5] *L. Kofler* und *A. Kofler*, Thermo-Mikro-Methoden. Innsbruck: Universitätsverlag Wagner. 1954. S. 523 und 596.
[6] *K. H. Beyer* und *J. T. Skinner*, J. Pharmacol. **68**, 419 (1940).
[7] *F. Feigl* und *V. Anger*, Mikrochim. Acta **1**, 138 (1937).
[8] *F. Feigl*, Spot Tests in Organic Analysis. 5. Aufl. Amsterdam: Elsevier. 1956. S. 261.
[9] *H. Malissa* und *F. F. Miller*, Mikrochem. **40**, 63 (1953); s. auch *F. F. Miller*, *K. Gedda* und *H. Malissa*, Mikrochem. **40**, 373 (1953); *H. Malissa* und *E. Schöffmann*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 187, 1057.
[10] l. c. [8], S. 262.
[11] *L. Nebbia* und *F. Guerrieri*, Chim. e ind. **35**, 896 (1953); s. auch *L. Nebbia* und *F. Guerrieri*, Chim. e ind. **37**, 198 (1955).
[12] *E. Vidic*, Arch. Toxikol. **16**, 63 (1956).
[13] *C. E. Cullis* und *D. J. Waddington*, Analyt. Chim. Acta **15**, 158 (1956).

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut und Pregl-Laboratorium der Universität Graz

Eine coulometrische Methode zur Bestimmung von Doppelbindungen in kleinen Mengen organischer Substanzen*

Von

H. Flaschka und **M. Hochenegger**

Mit 3 Abbildungen

(Eingegangen am 13. März 1957)

Coulometrische Messungen sind einfach, und die dazu nötigen elektrischen Geräte sind in den meisten Laboratorien vorhanden, so daß der Zusammenbau des elektrischen Teiles der Apparatur kaum auf Schwierigkeiten stößt. Sie sind auch genau, da man mit einem einfachen Milliamperemeter und einer Stoppuhr die Meßdaten sehr präzis erhalten kann. Es ist daher nicht zu verwundern, daß sich solche Methoden mehr und mehr einbürgern. Im nachstehenden wird eine Anwendung des coulometrischen Prinzips auf die Bestimmung von Doppelbindungen (und Hydrierzahlen) in organischen Verbindungen beschrieben.

Die üblichen Mikrohydriermethoden arbeiten entweder auf volumetrischer (z. B. *W. Schöniger*[1]) oder manometrischer Basis (z. B. *N. Clauson-Kaas* und *F. Limborg*[2]). Hierbei ist die Messung von Volumen, Temperatur und Druck nötig, wonach man in Kombination mit der Einwaage und dem Molekulargewicht der Substanz die Anzahl der Doppelbindungen berechnen kann. Bei der coulometrischen Methode treten als Meßgrößen nur Stromstärke und Zeit auf. Voraussetzung ist die Konstanz von Temperatur und Luftdruck während der Bestimmung. Dieser kann innerhalb der Versuchsdauer von etwa $^1/_2$ Stunde als unveränderlich angenommen werden. Die Temperatur läßt sich innerhalb der nötigen Grenzen durch Einsetzen der Apparatur in ein Wasserbad ausreichender Größe konstant halten.

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* in aufrichtiger Verehrung zum 70. Geburtstag gewidmet.

Das *Prinzip der Methode* ist demnach wie folgt zu skizzieren: Nach Sättigung des Katalysators wird in der Apparatur ein bestimmter Überdruck eingestellt und durch die Stellung der Säule in einem Doppelschenkelmanometer fixiert. Bringt man nun die Substanz mit Lösungsmittel und Katalysator in Kontakt, so beginnt die Hydrierung, und der Druck nimmt ab. Durch elektrolytische Zersetzung verdünnter Schwefelsäure wird Wasserstoff erzeugt, und der Druck steigt wieder an. Die Elektrolyse wird so lange betrieben, bis der anfängliche Druck wieder erreicht ist. Aus Zeit und Stromstärke läßt sich dann die während der Hydrierung aufgenommene Wasserstoffmenge berechnen.

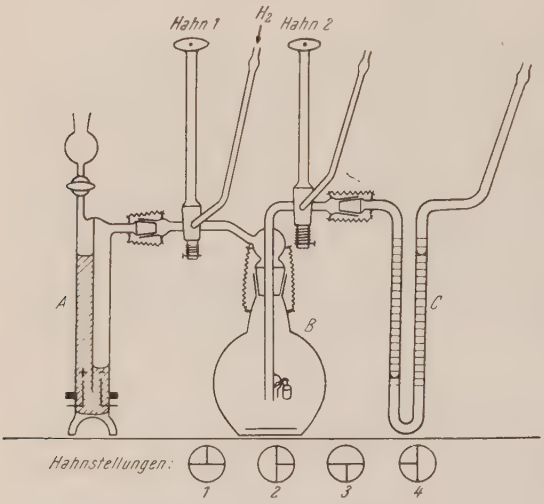


Abb. 1. *A* Elektrolysierzelle, *B* Reaktionsgefäß, *C* Manometer

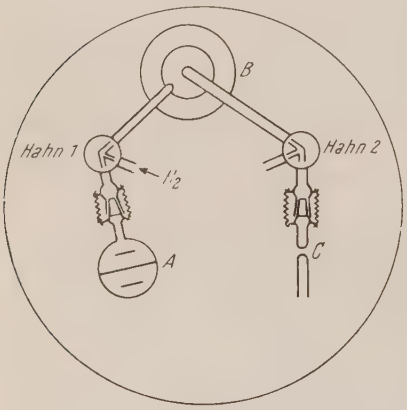


Abb. 2

Das Verfahren

Die *Apparatur* besteht aus drei Teilen (Abb. 1): Elektrolysierzelle, Reaktionsgefäß und Manometer. Das Elektrolysiergefäß (*A*) hat einen Außendurchmesser von 3,0 cm und besteht aus zwei Schenkeln, in die von unten her zwei Platinelektroden (0,7 × 1,5 cm) eingeschmolzen sind. Der linke Schenkel mündet in einen Hahntrichter zum Einfüllen der Säure. Der rechte führt über ein Verbindungsrohr von etwa 0,3 cm lichter Weite, einen Verbindungsschliff und den Dreiweghahn (*H 1*) zum Reaktionsgefäß (*B*). Dieses faßt etwa 100 ml und führt mittels eines tiefer eintauchenden Rohres über den Dreiweghahn (*H 2*) und einen Verbindungsschliff zum U-Rohr-Manometer (*C*), dessen lichte Weite etwa 0,4 cm beträgt. Es hat eine willkürliche Kalibrierung.

Die Abb. 1 zeigt die drei Hauptteile schematisch im Aufriß. Tatsächlich ist jedoch aus Gründen der Raumersparnis die Anordnung gewinkelt, wie man aus dem Grundriß in Abb. 2 ersehen kann. Die gesamte Apparatur wird in ein 3-l-Becherglas gestellt, das mit Wasser gefüllt ist und als Thermostat dient. Die Gas-Zu- und -Ableitungen sowie die Hähne sind so verlängert, daß die Bedienung von außen, das heißt oberhalb des Wasserspiegels, erfolgen kann. Die gesamte Apparatur im Becherglas ist so aufgebaut, daß unter dem Reaktionsgefäß (*B*) ein elektrischer Magnetrührer steht, der während der Hydrierung die Durchmischung der Probe besorgt.

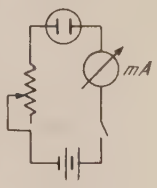


Abb. 3

Die *Schaltung* (Abb. 3) zeigt einen 4-Volt-Akkumulator, einen Schalter, ein Milliamperemeter (50 mA mit mindestens $\pm$ 1 mA Ablesegenauigkeit) und einen Regulierwiderstand von etwa 100 Ω in Serie mit dem Elektrolysiergefäß. Natürlich kann auch eine der käuflichen coulometrischen Apparaturen verwendet werden.

Besonderes Augenmerk ist darauf zu richten, daß die Zuleitungen zu den Elektroden gegen Feuchtigkeit absolut gesichert sind, da sonst Nebenströme durch das Thermostatenwasser zu Fehlresultaten führen würden. Bewährt hat sich hier ein zweiadriger Hudrindraht. Die Einführungsöffnung in das Elektrolysengefäß ist mit Krönigschem Glaskitt abgedichtet.

Reagenzien

30%ige Schwefelsäure (7,47-n, $d = 1{,}22$) wird durch Verdünnen von 10,5 ml konz. Schwefelsäure ($d = 1{,}84$) mit Wasser auf 50 ml hergestellt. Diese Konzentration ist zu wählen, da diese Säure die größte Leitfähigkeit besitzt ($\varkappa = 0{,}7388\ \mathrm{cm^{-1}}\ \Omega^{-1}$)[3].

Raney-Nickel, nach der Vorschrift von *L. W. Covert* und *H. Adkins*[4] hergestellt. Bezüglich der Auswahl anderer Katalysatoren vergleiche[5,6].

Äthylalkohol oder ein anderes Lösungsmittel (vgl. hierzu [7]).

Paraffinöl.

Wasserstoff aus einer Bombe.

Zusammensetzung der Apparatur

Durch den Trichter füllt man in die Elektrolysierzelle Schwefelsäure, bis die Flüssigkeit in beiden Schenkeln etwa in halber Höhe steht. Durch den Schliffansatz wird mittels einer Kapillare Paraffinöl in das Manometer (*C*) gefüllt, bis beide Schenkel zur halben Höhe voll sind. Nun setzt man die drei Teile gemäß Abb. 1 und 2 zusammen und sichert die gut gefetteten Schliffe mit Federn. Die Apparatur steht frei.

Durchführung der Bestimmung

Das Reaktionsgefäß (*B*) wird abgenommen, und dann werden etwa 2 ml Alkohol (oder ein anderes Lösungsmittel) sowie eine Spatelspitze Katalysator und das Eisenstäbchen für den Magnetrührer eingebracht. Das Rührstäbchen soll eine Länge von nahezu der ganzen Abflachung des Kölbchenbodens haben. Auf den Dorn am Einleitungsrohr, an dem bereits ein mit einer Öse versehener Eisendraht hängt, kommt noch das Glasnäpfchen mit der Einwaage. Das Reaktionsgefäß (*B*) wird an den gefetteten Schliffkern gesetzt und mit Federn gesichert. Die gesamte Apparatur wird nun in ein 3-l-Becherglas gestellt, das so viel Wasser enthält, daß die Apparatur etwa 1 bis 2 cm überspült wird und nur die Verlängerungen zur Bedienung der Hähne und die Ansatzstücke der Gaszuleitungen herausragen. Es ist wichtig, daß das Wasser Temperaturgleichgewicht mit dem Arbeitsraum erreicht hat. Das Becherglas mit der darin befindlichen Apparatur wird nun so auf ein Gestell gesetzt, daß unter dem Reaktionsgefäß der Magnetrührer zu stehen kommt.

Man verbindet das Ansatzstück bei *H 1* mittels Gummischlauches, der einen Entlüftungshahn trägt, mit der Wasserstoffbombe, bringt *H 1* in Stellung *3* (s. Abb. 1), *H 2* in *4* und leitet bei geschlossenem Hahn des Elektrolysiergefäßes etwa 5 Minuten lang Wasserstoff durch den Mittelteil der Apparatur. Anschließend dreht man *H 2* in eine Mittelstellung zwischen *4* und *1*, wodurch diese Seite der Apparatur geschlossen wird. Man steigert den Druck in der Apparatur, bis das Reduzierventil an der Bombe etwa 0,3 atü anzeigt, und schließt den zweiten Arm der Apparatur durch Drehen von *H 1* in eine Stellung zwischen *3* und *4*. Hierauf läßt man durch den Entlüftungshahn am Gummischläuch, der zur Bombe führt, den Überdruck ab, nachdem auch das Reduzierventil geschlossen wurde, und bringt *H 1* in Stellung *4*. Unter dem Reaktionsgefäß wird der Magnetrührer in Gang gesetzt und während 15 Minuten der Katalysator unter Überdruck mit Wasserstoff gesättigt. Inzwischen tritt auch Temperaturausgleich im gesamten System ein. Der Trichterhahn an der Elektrolysierzelle wird geöffnet und bei geschlossenem Entlüftungshahn das Reduzierventil wieder langsam aufgedreht, so daß der Wasserstoff alle Luft im rechts gezeichneten Schenkel (Abb. 1) vertreibt, was nach etwa 3 bis 4 Minuten der Fall ist. Der Gasstrom wird nun gedrosselt und der Trichterhahn geschlossen. Die Schwefelsäure steht dann im rechten Schenkel so tief, daß die Elektrode gerade bedeckt ist. Dieser Vorgang ist nur nötig, wenn eine Analysenserie begonnen wird. Während einer solchen wird jedoch bei *H 1* in Stellung *2* Wasserstoff durch die Apparatur geleitet und durch Drehen nach der Zwischenstellung *2* und *1* der Mittelteil der Apparatur abgesperrt.

Nach der etwa 15 Minuten dauernden Sättigung wird der Überdruck durch Drehen von *H 2* in Stellung *4* abgelassen. Beide Hähne werden nun nach Stellung *1* gebracht, und die gesamte Apparatur ist durchgehend verbunden. Das Manometer zeigt manchmal steigenden Druck an, was durch Ablassen, wie eben beschrieben, ausgeglichen werden kann, wenn der Anstieg zu stark wird. Nun schließt man den Stromkreis und erzeugt im System einen geringen Überdruck, so daß das Manometer im linken Schenkel (Abb. 1) an einen der letzten Teilstriche unten zu stehen kommt. Der Strom wird abgeschaltet, und man wartet 5 Minuten, ob der Druck konstant bleibt. Gegebenenfalls wird durch kurzes Elektrolysieren der Meniskusstand korrigiert. Die Stromstärke wird durch den Regelwiderstand auf einen bestimmten Wert, am besten 50 mA, eingestellt.

Ist Druckkonstanz erreicht, so wird von außen her dem Reaktionsgefäß (*B*) ein Magnet genähert, der den am Dorn hängenden Eisendraht anzieht, wodurch das Näpfchen mit der Probe abfällt. Die Rührgeschwindigkeit ist so zu regulieren, daß das Näpfchen vom Rührstäbchen mitgenommen wird. Mit Einsetzen der Hydrierung steigt das Paraffinöl im linken Manometerschenkel, und man schließt den Strom unter gleichzeitiger Inbetriebsetzung der Stoppuhr. Während der Elektrolysierperiode hat man dafür zu sorgen, daß durch Nachregulieren des Widerstandes die Stromstärke konstant bleibt. Es wird so lange elektrolysiert, bis der linke Meniskus den bei Beginn der Hydrierung abgelesenen Teilstrich wieder erreicht hat. Ist dies der Fall, so werden Strom und Uhr *gleichzeitig* zum Stillstand gebracht. Kurzes Nachelektrolysieren unter gleichzeitiger Zeitmessung kann manchmal nötig sein, doch ist Druckkonstanz über 5 Minuten meist sofort erreicht.

Berechnung

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß im linken Schenkel des Elektrolysiergefäßes Sauerstoff entwickelt wird, der ebenfalls an der Drucksteigerung beteiligt ist, ergibt sich:

$$1\ \text{mA} \cdot \text{sec} = 1{,}567 \cdot 10^{-5}\ \text{mg Wasserstoff.}$$

Die Anzahl der Doppelbindungen berechnet man nach der Gleichung

$$\Delta = 7{,}773 \cdot 10^{-6}\ \frac{\text{mA} \cdot \text{sec} \cdot M}{E},$$

worin M das Molekulargewicht der Substanz und E die Einwaage in mg ist.

Diskussion der Methode

Wie die Zahlen der Tabelle 1 zeigen, ergibt sich eine maximale Abweichung von $\pm$ 0,08 Einheiten. Die Analysen sind also durchaus

hinreichend genau, um mit Sicherheit die Anzahl der Doppelbindungen im Molekül festzustellen. Ob diese Genauigkeit von 8% für die Bestimmung von Hydrierzahlen ausreichend ist, bleibe dahingestellt. Doch ließe sich vermutlich durch Verkleinerung des Volumens des Reaktionsgefäßes (*B*) und des Lumens des Manometers (*C*) eine Steigerung der Genauigkeit erreichen. Die vorliegenden Untersuchungen wurden im

Tabelle 1. Analysenergebnisse

Substanz	Einwaage mg	mA	sec	Doppelbindungen gefunden
Crotonsäure	4,372	50	134	1,03
	5,960	50	178	1,00
	4,900	50	146	1,00
Fumarsäure	8,484	50	200	1,06
	11,275	50	252	1,01
	9,550	50	217	1,03
Ölsäure	6,922	50	63	1,00
	15,734	50	132	0,92
	10,327	50	100	1,06
Undecensäure	11,005	50	142	0,93
	12,193	50	173	1,02
	8,925	50	115	0,92
Zimtsäure	10,416	50	189	1,04
	10,422	50	166	0,92
	9,927	50	182	1,05

besonderen Hinblick auf die Bestimmung der Doppelbindungen durchgeführt, so daß das Erreichte genügte. Die Dauer einer Bestimmung beträgt etwa $^1/_2$ Stunde. Dies gilt natürlich nur für Substanzen, die schnell hydrierbar sind, wie die als Beispiel ausgewählten. Unter den gegebenen Bedingungen erübrigt es sich, die Einwaage mit einer Mikrowaage vorzunehmen. Eine Halbmikrowaage genügt, und bei Substanzmengen von über 10 mg ist auch die erste Dezimalstelle ausreichend, um über die Anzahl der Doppelbindungen zu entscheiden.

Es mag von Interesse sein, darauf hinzuweisen, daß man die Apparatur vermutlich ohne zu große Schwierigkeiten auch voll automatisieren könnte, indem man in Verbindung mit einem Coulometer am Manometer ein Relais anbringt, das beim Wiedererreichen der Ausgangsstellung der Manometerflüssigkeit automatisch abschaltet. Dies mag für lange Hydrierzeiten und bei Serienanalysen von Vorteil sein.

Die Apparatur wurde in Zusammenarbeit mit der Firma P. Haack; Wien IX, Garnisongasse 3, hergestellt und kann auch durch sie bezogen werden.

Zusammenfassung

Es wird eine Apparatur zur coulometrischen Bestimmung von Doppelbindungen in organischen Substanzen beschrieben. Die Einwaagen liegen zwischen 5 und 20 mg, die Genauigkeit für eine Doppelbindung liegt zwischen 0,92 und 1,08. Eine Bestimmung dauert etwa $^1/_2$ Stunde.

Summary

An apparatus is described for the coulometric determination of double bounds in organic substances. The sample range from 5 to 20 mg. The accuracy for one double bound lies between 0,92 and 1,08. A determination requires about 30 minutes.

Résumé

Description d'un appareil de dosage coulombmétrique des doubles liaisons dans les substances organiques. Les prises d'essai sont comprises entre 5 et 20 mg. La précision correspond à un intervalle de variation de 0.92 à 1.08 pour une double liaison. La durée d'une détermination est d'environ une demi-heure.

Literatur

[1] *W. Schöniger*, Mikrochem. **38**, 132 (1951).

[2] *N. Clauson-Kaas* und *F. Limborg*, Acta Chem. Scand. **1**, 884 (1947).

[3] *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-chemische Tabellen, 3. Aufl. 1905. S. 742.

[4] *L. W. Covert* und *H. Adkins*, J. Amer. Chem. Soc. **54**, 4116 (1932).

[5] *Houben-Weyl*, Methoden der organischen Chemie, 4. Aufl., Bd. IV/2. 1953. S. 163.

[6] l. c. [5], S. 298.

[7] l. c. [5], Bd. II, S. 290.

Aus dem Anorganischen Forschungslaboratorium der Chemischen Werke Albert, Wiesbaden-Biebrich/Rhein

Beitrag zur Analyse kondensierter Phosphate*

Von

K. Gassner

(Eingegangen am 15. April 1957)

Die Analyse kondensierter Phosphate wurde in jüngster Zeit wesentlich erleichtert durch die Ausarbeitung papierchromatographischer Methoden durch *Ebel* und Mitarbeiter[1], *Westman* und Mitarbeiter[2], *Grunze* und *Thilo*[3], *Crowther*[4], *Karl-Kroupa*[5] u. a.[6]. Quantitative Auswertungsmöglichkeiten und detaillierte Arbeitsvorschriften wurden vor allem von *Karl-Kroupa*[5] bekanntgegeben. Die papierchromatographische Arbeitstechnik läßt sich sowohl auf die Kontrolle der Zusammensetzung reiner bzw. technischer Phosphate, auf die Phosphatanalyse von Waschmitteln sowie auf die Analyse kondensierter Phosphate in Lebensmitteln[7] anwenden. Wir führen die papierchromatographische Arbeitstechnik zur Kontrolle bzw. Reinheitsprüfung kondensierter Phosphate als solche sowie in Waschmitteln seit längerer Zeit aus. Im nachstehenden soll auf Grund der dabei gewonnenen Erfahrungen über einige Verbesserungen bzw. über die Ausschaltung möglicher Störungen berichtet werden.

Bekanntlich trennt man linear kondensierte Polyphosphate mit einem sauren, Trichloressigsäure enthaltenden Lösungsmittel, wobei nach *Grunze* und *Thilo*[3] der Logarithmus der Positionskonstanten der Phosphate eine lineare Funktion des Kondensationsgrades ist. Ringförmige Phosphate (Trimetaphosphat, Tetrametaphosphat) sind mit diesem Lösungsmittel von linear kondensierten Phosphaten nicht eindeutig zu trennen. Man trennt diese mit einem alkalischen Lösungsmittel ab, wobei Trimeta- und Tetrametaphosphat am schnellsten wandern.

Fehlerbreite

Im Gegensatz zu manchen anderen quantitativen chromatographischen Verfahren ist es bei der Bestimmung kondensierter Phosphate möglich,

* Herrn Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

Auszugsweise vorgetragen auf dem Symposion „Kondensierte Phosphate in Lebensmitteln" am 6. April 1957, Universität Mainz.

die Bestimmung von Absolutmengen zu vermeiden. Man kann nach der chromatographischen Trennung das Verhältnis der Phosphorgehalte der einzelnen Flecke (Phosphate) zueinander bestimmen und aus einer gleichzeitig durchgeführten Gesamtphosphorbestimmung die absoluten Prozentzahlen der Phosphate berechnen. Das Verfahren hat den unbestreitbaren Vorzug, daß Fehler während des Aufbringens der Lösung keine Rolle spielen, da nur Verhältnisse bestimmt werden. Sowohl *Crowther*[4] als auch *Karl-Kroupa*[5] wenden dieses Verfahren an. Auch wir führen die quantitative Bestimmung in dieser Weise durch. Der Genauigkeit eines solchen Verfahrens sind insofern Grenzen gesetzt, als sich nicht unbegrenzte Mengen Substanz chromatographieren lassen. Mehr als etwa 200 μg Phosphat (als P_2O_5 berechnet), üblicherweise gelöst in 10 μl Wasser, lassen sich chromatographisch nicht mehr mit genügender Schärfe trennen. Normalerweise trennen wir Phosphatgemische in Mengen, die nicht mehr als 100 μg P_2O_5 entsprechen. Ist nun bei der nachfolgenden photometrischen Bestimmung der absolute Fehler z. B. 0,5 μg P_2O_5, so wird sich die Bestimmung der Phosphatzusammensetzung nach diesem Verfahren mit einem absoluten Fehler von $\pm$ 0,5% durchführen lassen. Der relative Fehler steigt bei den in sehr geringer Menge vorliegenden Phosphaten naturgemäß stark an. Wir rechnen in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von *Crowther*[4] und *Karl-Kroupa*[5] bei dieser Methode mit einem absoluten Fehler von $\pm$ 0,5%.

Hydrolyse

Bei quantitativen Bestimmungen kommt einer möglichen sekundären Veränderung der Phosphatzusammensetzung während des Chromatographierens eine besondere Bedeutung zu. Besonders das saure, Trichloressigsäure enthaltende Lösungsmittel kann z. B. bei der Reinheitsprüfung von Tripolyphosphat durch geringe Hydrolyse zu Fehlern führen. *Karl-Kroupa* verwendet daher für genaueste Analysen Hydrolysenkorrekturfaktoren und für routinemäßige Kontrollbestimmungen verkürzte Laufzeiten. Dabei werden Polyphosphate mit mehr als 3 P-Atomen in summa erfaßt. Dieses Verfahren genügt für die meisten Ansprüche der Praxis, und wir geben ihm daher z. B. zur Reinheitsprüfung von Tripolyphosphat den Vorzug. Zur Bestimmung geringer Mengen Orthophosphat neben kondensierten Phosphaten führen wir keine papierchromatographische Trennung durch, sondern photometrieren das bei $p_H = 4$ mit Ammoniummolybdat und Ascorbinsäure erzeugte Phosphomolybdänblau.

Störungen

Nachstehend sind die qualitativen Ergebnisse der in Gegenwart verschiedener Kationen und Anionen durchgeführten Chromatogramme

Tabelle 1. Störungen der papierchromatographischen Trennung kondensierter Phosphate bzw. deren teilweise Beseitigung durch Komplexon III

Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in μg	Kationen ohne Komplexon — Bemerkungen		Kationen mit Komplexon — Bemerkungen	
		alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm	alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm
Pb^{2+}	125 31,4 6,7	Phosphate gut getrennt, ein Teil wandert bei allen Konzentrationen nicht	größere Mengen wandern nicht, Phosphate außer Ortho verwaschen	Pyro, Poly, Ortho etwas verwaschen, Trimeta gut getrennt	große Mengen wandern nicht, Phosphate außer Ortho verwaschen Trimeta und Poly verwaschen, Pyro + Ortho gut
Sn^{2+}	105 26,2 5,3	Trimeta hufeisenförmig, etwas Phosphat wandert nicht keine Störung	größere Mengen wandern nicht, Phosphate verwaschen Ortho gut	Trennung gut	Trennung gut
Hg^{+}	161 40,3 8,1	Trimeta etwas verwaschen	Pyro, Poly, Trimeta zum Teil verwaschen, geringe Mengen wandern nicht	Trennung gut	Poly, Trimeta leicht verwaschen, sonst Trennung gut
Mn^{2+}	72,7 18,2 3,6	alle Phosphate bleiben größtenteils auf der Startlinie Trennung gut, kleine Mengen wandern nicht	Trimeta-Poly schlecht getrennt, Pyro etwas verwaschen Pyro nicht verwaschen, Trimeta-Poly schlecht getrennt	viel Phosphat wandert nicht Trennung gut	Ortho gut, Pyro, Poly, Trimeta stark verzerrt Ortho, Pyro gut, Poly, Trimeta etwas verzerrt
Co^{2+}	31 7,8 1,6	Trimeta hufeisenförmig, Trennung gut, großer Teil wandert nicht keine nennenswerte Störung	Trennung gut, roter Co-Fleck über Ortho	Trennung gut, rote Co-Flekken zwischen Ortho und Trimeta	Pyro, Poly, Trimeta leicht verzerrt Trennung gut

(Fortsetzung der Tabelle 1)

Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in μg	Kationen ohne Komplexon		Kationen mit Komplexon	
		Bemerkungen		Bemerkungen	
		alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm	alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm
Ni^{2+}	41,8 10,3 2,1	Trennung sehr schlecht, Teil bleibt auf der Startlinie Trennung etwas besser, alles wandert	Trennung gut	Trimeta verwaschen, Trennung gut	Trennung gut
Fe^{3+}	41,3 10,3 2,1	Trimeta hufeisenförmig, großer Teil Phosphat wandert nicht Trimeta gespalten, geringer Teil Phosphat wandert nicht	große Mengen wandern nicht geringe Mengen wandern nicht sonst, Trennung gut	Trimeta verzerrt, aber gut getrennt, gelbe Flecken von Fe^{3+}, Trennung gut	größere Mengen wandern nicht, starke Verzerrungen Spur verbleibt an der Startlinie, sonst gute Trennung
Cu^{2+}	52,5 13,1 2,6	Trennung Ortho, Pyro, Poly schlecht, Pyro-Poly-Fleck gespalten Trennung etwas besser	Pyro etwas verwaschen, sonst Trennung gut Pyro nicht verwaschen	Trimeta verwaschen Trennung gut	Trennung gut
Ag^{+}	127 31,5 6,3	Pyro, Poly, Ortho etwas verwaschen Trennung besser. Bei allen Konz. bleibt etwas auf der Startlinie	Phosphat wandert teilweise nicht, sonst Trennung gut	Trimeta etwas verwaschen, aber gut getrennt gute Trennung	Trennung gut
Mg^{2+}	40 10 2	alles außer Trimeta wandert nicht etwas Pyro-Poly verwaschen	geringe Mengen wandern nicht. Phosphate etwas verwaschen	Trimeta stark verwaschen, schlecht getrennt Trimeta schwach verwaschen Phosphate etwas verwaschen	Ortho gut, Pyro etwas verwaschen, Poly-Trimeta etwas verzerrt Trennung gut

(Fortsetzung der Tabelle 1)

Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in μg	Kationen ohne Komplexon		Kationen mit Komplexon	
		Bemerkungen		Bemerkungen	
		alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm	alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm
Sr^{2+}	82,8 12,1 4,1	Phosphate außer Trimeta wandern nicht etwas wandert nicht, Trennung gut	Trimeta, Poly schlecht getrennt (verzerrt)	viel wandert nicht, Trennung schlecht, Trimeta verzerrt Trennung gut	geringe Mengen bleiben an der Startlinie, Poly, Trimeta leicht verwaschen
Ba^{2+}	112 28 5,6	Phosphate außer Trimeta wandert nicht etwas wandert nicht, Pyro-Poly-Ortho dicht zusammen	starke Verzerrungen von Pyro, Poly, Trimeta Ortho und Pyro gut getrennt, Poly, Trimeta verzerrt	viel wandert nicht, Trimeta verzerrt Trennung gut	Ortho gut, Trimeta, Pyro, Poly stark verzerrt, schlecht getrennt Trennung gut
Ti^{4}	60 15 3	bei allen Konz. wandert etwas Phosphat nicht, Trennung gut	größere Mengen wandern nicht, sonst Trennung gut	viel Phosphat bleibt an der Startlinie, Trimeta gut getrennt, aber verwaschen	größere Phosphatmengen bleiben an der Startlinie
Zr^{4+}	53,8 13,4 2,7	bei allen Konz. bleibt etwas Phosphat auf der Startlinie, Trennung gut	größere Mengen wandern nicht, sonst Trennung gut	viel Phosphat wandert nicht. Wenig Phosphat bleibt an der Startlinie, Trennung bei allen Konz. gut	Phosphate verbleiben zum großen Teil auf der Startlinie
Zn^{2+}	45,5 11,4 2,3	Trennung außer Trimeta schlecht, etwas verbleibt kurz über der Startlinie alles steigt, Pyro, Poly, Ortho schlecht getrennt	Pyro, Poly, Trimeta etwas verzerrt, schlecht getrennt bessere Trennung	große Mengen wandern nicht, Trennung schlecht. Alles steigt, Poly, Pyro, Ortho verwaschen, Trennung gut	Ortho gut, Pyro, Poly, Trimeta verzerrt Trennung gut
Na^{+}	271 135,5 54,2 13,6	Trennung gut	Trennung gut		

(Fortsetzung der Tabelle 1)

Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in µg	Kationen ohne Komplexon — Bemerkungen: alkalisches Chromatogramm	Kationen ohne Komplexon — Bemerkungen: saures Chromatogramm	Kationen mit Komplexon — Bemerkungen: alkalisches Chromatogramm	Kationen mit Komplexon — Bemerkungen: saures Chromatogramm
K^+	525 266 105 26,1	Trennung gut	Trennung gut		
NH_4^+	272 136 54,5 13,6	Trennung gut	Trennung gut		
Ca^{2+}	271 136 27,1 21,7 16,2 10,8 5,4	alles bleibt an der Startlinie überall bleiben große Phosphatmengen an der Startlinie	ganz geringe Mengen an der Startlinie	fast alles Phosphat bleibt an der Startlinie wenig Phosphat bleibt an der Startlinie nichts bleibt an der Startlinie Trennung, soweit Flecke aufgestiegen, gut	geringe Mengen bleiben an der Startlinie

Störungen der papierchromatographischen Trennung kondensierter Phosphate

Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in µg	Anionen — Bemerkungen: alkalisches Chromatogramm	Anionen — Bemerkungen: saures Chromatogramm
SiF_6^{2-}	755,5 377,0 151,0 37,7	Trimeta hufeisenförmig Trennung gut	Trimeta etwas nach unten verzerrt Trennung sonst gut
SiO_3^{2-}	317,0 158,0 63,5 15,8	leichte Blaufärbung der Startlinie, Trimeta und Poly-Pyro verwaschen Trennung gut	etwas Phosphat bleibt auf der Startlinie, sonst Trennung gut
CCl_3COO^-	900 450 180 45	Trennung gut	Trimeta-Poly etwas verwaschen, sonst Trennung gut

(Fortsetzung der Tabelle 1)

Anionen			
Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in μg	Bemerkungen	
		alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm
MoO_4^{2-}	815 163 40,7 8,2	Trennung gut	starke Verwaschungen außer Ortho
AsO_4^{3-}	665 332 137 33,2	Trimeta gespalten, brauner Fleck in Orthohöhe, Phosphate klar getrennt, aber dicht zusammen	gute Trennung, hellblauer, braunumrandeter Fleck in Orthohöhe bei 665 und 332 g
SCN^-	773 387 155 38,7	Trennung gut	Trennung gut
JO_3^-	816 403 163 40,3	Pyro-Poly klar getrennt von verwaschenem Ortho und Trimeta Ortho, Pyro, Poly verwaschen	Poly, Trimeta etwas verzerrt, sonst Trennung gut
ClO_3^-	683 341 136 34	Trimeta hufeisenförmig Trennung gut	Trennung gut
F^-	327 163 65,5 16,3	Trimeta stark auseinandergezogen, Pyro-Poly-Ortho etwas hufeisenförmig	Pyro, Poly, Trimeta etwas länglich verzerrt, aber gut getrennt
Cl^-	606 303 121 30,3	Trimeta hufeisenförmig, Pyro, Poly, Ortho verzerrt Trimeta verwaschener Fleck	Trennung gut
J^-	766,3 381 152 38,1	Trimeta stark verwaschen, Ortho teils hufeisenförmig, teils verwaschen	Pyro, Poly, Trimeta etwas in die Breite verzerrt, aber gut getrennt
SO_3^{2-}	635 317 127 31,7	Trimeta verwaschen, alle Phosphate sehr schlecht getrennt	Trennung gut

(Fortsetzung der Tabelle 1)

Anionen

Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in µg	Bemerkungen	
		alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm
SO_4^{2-}	552 276 111 27,6	Trimeta pilzförmig verwaschen Ortho, Pyro, Poly schlecht getrennt Trennung besser, auch Trimeta	Trimeta-Poly länglich verzerrt zu dicht zusammen, Pyro, Ortho gut abgetrennt
$HCOO^-$	975 487 195 48,8	Trennung sehr schlecht Trimeta sehr verwaschen	Trennung gut
CH_3COO^-	316 158 63,5 15,8	Trimeta hufeisenförmig Ortho, Pyro, Poly dicht zusammen	Trennung gut
NO_3^-	775 387 155 38,7	Trennung gut Trimeta etwas verwaschen	Trennung gut
$S_2O_3^{2-}$	708 354 142 35	Trennung gut	Trennung gut
CrO_4^{2-}	120 29,9 6,0	Ortho-Trimeta verwaschen Ortho, Pyro, Poly gut Trimeta gespalten	Trimeta, Poly, Pyro verwaschen größere Mengen bleiben auf der Startlinie, Orthofleck gut

Sonstige Substanzen

Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in µg	Bemerkungen	
		alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm
Komplexon (Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure)	5	Trennung gut	Trennung gut
	300	Trennung gut	Trennung gut
	400	Trennung gut	Trennung gut
	600	Trennung gut	Trennung gut
	1000	Ortho- und Trimeta-schwanzbildung	Trennung gut

(Fortsetzung der Tabelle 1)

Substanz	Auf Papier aufgetragene Menge in μg	Bemerkung	
		alkalisches Chromatogramm	saures Chromatogramm
Ammoniumcitrat	500	Ortho und Trimeta etwas verwaschen	Orthofleck herzförmig und kürzer gewandert
	1000	Ortho und Trimeta lange Schwanzbildung	Ortho noch kürzer gewandert
Ammoniumoxalat	500	keine Störung	keine Störung
Natriumsulfat (Na_2SO_4)	5	Trennung gut	Trennung gut
	200	R_f-Werte verschoben, jedoch noch getrennt	R_f-Werte verschoben, jedoch noch getrennt
	500	keine Trennung	keine Trennung
Soda (Na_2CO_3)	200	Flecke etwas verwaschen	gute Trennung
	500	keine Trennung	R_f-Werte verschoben, P-Flecke jedoch getrennt
Natriumperborat $NaBO_2 \cdot H_2O_2$	200	keine Störung	keine Störung

sowie die mit gleichen Mengen Kationen unter Zusatz von je 400 μg Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure ausgeführten Chromatogramme zusammengestellt. Zur chromatographischen Trennung wurde ein Substanzgemisch, bestehend aus je 20 μg Ortho-, Pyro-, Tripoly- und Trimeta-P_2O_5, gelöst in 10 μl, in Form eines höchstens 3 mm breiten Streifens auf die Startlinie gebracht. Die nachstehend angeführten Anionen wurden durchwegs in Form ihrer Natriumsalze verwendet. Zur Prüfung auf Kationen fanden folgende Salze Verwendung: $Pb(NO_3)_2$, $SnCl_2 \cdot 2\,H_2O$, Hg_2SO_4, $MnSO_4$, $CoCl_2 \cdot 6\,H_2O$, $NiSO_4 \cdot 7\,H_2O$, $FeCl_3 \cdot 6\,H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$, Na_2SiF_6, KCl, $(NH_4)_2SO_4$, $AgNO_3$, $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$, $MgSO_4$, $Sr(NO_3)_2$, $BaCl_2 \cdot 2\,H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$, $Zr(NO_3)_4$, $TiOSO_4$. Als Chromatographierpapier diente Schleicher & Schüll Nr. 2040a, mit Salzsäure gewaschen. Es zeigte sich, daß bei fast allen Schwermetallkationen auch in geringen Mengen Störungen der chromatographischen Trennung auftreten. Der Zusatz von Komplexon III verbessert die Chromatographierbarkeit zumindest bei Anwesenheit geringer Mengen störender Kationen in fast allen Fällen. Am besten lassen sich Störungen durch Zusatz von Komplexon III und anschließende alkalische Chromatographie umgehen. Z. B. ließ sich nur auf diese Art der störende Einfluß von Calcium bis zu 16 μg ausschalten. Im allgemeinen stören hohe Salzkonzentrationen. Von den geprüften Anionen stören besonders Sulfat, Sulfit und Formiat das alkalische Chromatogramm sowie Chromat das saure Chromatogramm. Wie zu erwarten war, stören Arsenat, das einen

blauen bis braunen Fleck in Orthophosphathöhe ergibt, und Silikat, das zu einer Blaufärbung auf der Startlinie führt. Keine Störung wurde durch Silikofluorid hervorgerufen.

Höher- und hochkondensierte Polyphosphate

Höher- und hochkondensierte Polyphosphate lassen sich unter anderem durch die Viscosität ihrer wäßrigen Lösungen charakterisieren[8]. Chemisch läßt sich eine mittlere Kettenlänge dieser Gemische durch acidimetrische Titration der schwachsauren Endgruppen der Polyphosphorsäuren ermitteln[9]. Obwohl man Polyphosphate bis zum Kondensationsgrad 10 als Individuen auftrennen kann, ist doch die papierchromatographische Charakterisierung der Polyphosphate nur unvollständig, wenn man bedenkt, daß Grahamsches Natriumpolyphosphat sicher Polyphosphate mit 100 und mehr P-Atomen, Kurrolsches Kaliumpolyphosphat bis zu einer Million P-Atome im Molekül enthalten kann. Wir charakterisieren daher höherkondensierte Phosphate durch das alkalische Chromatogramm, indem wir einen mittleren P_2O_5-Gehalt und ungefähren mittleren Kondensationsgrad des betreffenden Polyphosphatgemisches durch Vergleich mit bekannten Gemischen festlegen[6]. Um anderseits Polyphosphate bis P 10 durch Lokalisieren der nicht angefärbten Zonen (latenten Bilder) quantitativ bestimmen zu können, benötigten wir ein Lösungsmittel, in dem auch die nach *Thilo* Oligophosphate genannten Polyphosphate P 4 bis P 10 noch mit genügendem Abstand, das heißt etwa 0,5 bis 1 cm, voneinander trennbar waren. Wir entwickelten dabei folgendes Lösungsmittelgemisch:

80 ml Isopropanol
5 g Trichloressigsäure
0,3 ml Ammoniak, konz.
40 ml Wasser
40 ml Cellosolve (Äthylenglykolmonomethyläther)

Das Lösungsmittel weist gegenüber dem früher bekannten verbesserte Trenneigenschaften für Polyphosphate auf. Wir chromatographieren allerdings bei 12 bis 14° C etwa 30 Stunden. In einem Polyphosphatglas mit einem Gesamt-P_2O_5-Gehalt von 62%, entsprechend einem ungefähren mittleren Kondensationsgrad P 5, konnten wir mit diesem Lösungsmittel bei 12° C in einem Ringchromatogramm 12 Zonen, das heißt P 11 und P 12, erkennen. Zur weiteren Charakterisierung von höher- und hochkondensierten Polyphosphaten verwenden wir folgendes Lösungsmittel:

80 ml Isopropanol
5 g Trichloressigsäure
0,3 ml Ammoniak, konz.

70 ml Wasser
20 ml Cellosolve
40 ml Dioxan

Dabei wandern Oligophosphate zum Teil nicht mehr als Individuen, jedoch sind nach etwa 18 bis 20 Stunden Laufzeit Oligo- und Polyphosphate, zum Teil vom Kondensationsgrad > 10 über eine Strecke von 20 bis 30 cm verteilt. Extrapoliert man aus der Position der ersten Phosphate nach der Thiloschen Beziehung auf den Kondensationsgrad des gerade nicht mehr wandernden Phosphates, genauer gesagt desjenigen

Tabelle 2. R_f-Werte von Polyphosphaten in sauren Lösungsmitteln

Lösungsmittel	Zusammensetzung	p_H	Mono-	Di-	Tri-	Tetra-	Penta-	Hexa-	Heptaphosphat
Grunze und Thilo I	75 ml Isopropanol 25 ml Wasser 5 g Trichloressigsäure 0,3 ml NH_4OH (20%ig)	1,5 1,7	0,69	0,44	0,29	0,17	0,11	0,07	0,04
Grunze und Thilo II	70 ml Isopropanol 10 ml Wasser 20 ml 20%ige Trichloressigsäure 0,3 ml NH_4OH (25%ig)	1,7	0,73	0,53	0,39	0,29	0,22	0,16	0,11
Cellosolvelösungsmittel	80 ml Isopropanol 5 g Trichloressigsäure 0,3 ml NH_4OH (25%ig) 40 ml Wasser 40 ml Äthylenglykolmonomethyläther	1,7	0,80	0,59	0,45	0,35	0,26	0,18	0,11
Dioxanlösungsmittel	80 ml Isopropanol 5 g Trichloressigsäure 0,3 ml NH_4OH (25%ig) 70 ml Wasser 20 ml Äthylenglykolmonomethyläther 40 ml Dioxan	1,7	0,79	0,62	0,53	0,49	0,44	0,32	—

Phosphates, das gerade $^1/_{100}$ der Orthophosphatstrecke zurücklegt, so würde man auf etwa 40 P-Atome kommen. Anderseits sprechen gewisse Abweichungen von dieser Gesetzmäßigkeit, wahrscheinlich durch Verdrängungseffekte bedingt, eher für einen Kondensationsgrad von etwa 20. Zur quantitativen Auswertung dieser Chromatogramme ist es nun nicht nötig, die Phosphate als Individuen abzutrennen, sondern es genügt, durch Einteilen des Chromatogramms längs der Laufrichtung in äquidistante Streifen bzw. R_f-Bereiche und Bestimmung des Phosphorgehaltes in denselben eine für jedes Polyphosphatgemisch charakteristische P_2O_5-Verteilungskurve aufzunehmen.

In Tabelle 2 sind die R_f-Werte der beiden Lösungsmittel im Vergleich mit den Lösungsmitteln I und II nach *Grunze* und *Thilo*[3] zusammengestellt.

Zusammenfassung

Es werden Erfahrungen mit der papierchromatographischen Bestimmung kondensierter Phosphate mitgeteilt. Die bei der chromatographischen Analyse auftretende Hydrolyse wird durch verkürzte Laufzeiten bzw. Chromatographieren bei niedriger Temperatur vermieden. Kleine Mengen Orthophosphat neben kondensierten Phosphaten werden durch Reduktion von Phosphomolybdat zu Phosphomolybdänblau mit Ascorbinsäure bei $p_H = 4$ bestimmt. Die störenden Konzentrationen einer großen Anzahl Kationen und Anionen sowie deren teilweise oder vollständige Beseitigung durch Zusatz des Dinatriumsalzes der Äthylendiamintetraessigsäure werden beschrieben. Zur Charakterisierung höherkondensierter Polyphosphate werden zwei Lösungsmittelgemische verwendet, von denen sich das eine durch besonders scharfe Trennungen, das andere durch besonders große R_f-Werte auszeichnet.

Summary

Experiences are reported relative to the paper chromatographic determination of condensed phosphates. The hydrolysis that occurs in chromatographic analysis is avoided by the shortened time of transit or by chromatographing at lower temperatures. Small amounts of orthophosphate in the presence of condensed phosphates are determined by reduction of phosphomolybdate to phosphomolybdenum blue by ascorbic acid at $p_H = 4$. The interfering concentrations of a large number of cations and anions as well as their partial or complete elimination by the addition of disodium salts of ethylenediaminetetraacetic acid are described. For the characterization of higher condensed polyphosphates two solvent mixtures were employed, the one being distinguished by especially sharp separations, the other by particularly high R_f-values.

Résumé

Communication de résultats obtenus pour la détermination de phosphates condensés par chromatographie sur papier. L'hydrolyse qui se produit lors de la chromatographie sur papier est évitée par réduction de la durée de

la manipulation ou encore par abaissement de la température de chromatographie. Le dosage de petites quantités d'orthophosphate en présence de phosphates condensés est effectuée par réduction du phosphomolybdate en bleu de phosphomolybdène par l'acide ascorbique à $p_H = 4$. Description d'un mode opératoire permettant d'éliminer partiellement ou complètement les effets perturbateurs d'un grand nombre de cations et d'anions à certaines concentrations par addition du sel disodique de l'acide èthylènediaminetétracétique. Deux mélanges de solvants sont utilisés pour la caractérisation des polyphosphates de condensation élevée; l'un se signale par les séparations particulièrement nettes et l'autre par les valeurs particulièrement élevées de R_f qu'ils permettent d'obtenir.

Literatur

[1] *J. P. Ebel* und *Y. Volmar*, C. r. acad. sci., Paris **233**, 415 (1951); *J. P. Ebel, Y. F. Bassili* und *Y. Volmar*, C. r. acad. sci., Paris **235**, 372 (1952); *J. P. Ebel*, C. r. acad. sci., Paris **234**, 621, 732 (1952); Bull. soc. chim. biol. **34**, 321 (1952); Ann. Biol. **28**, 113 (1952); Bull. soc. chim. France **20**, 1, 991, 998, 1089, 1096 (1953); Mikrochim. Acta [Wien] **6**, 679 (1954); *J. P. Ebel, Y. Volmar* und *Y. F. Bassili*, Bull. soc. chim. France **20**, 1085 (1953); *J. P. Ebel* und *J. Colas*, C. r. acad. sci., Paris **239**, 173 (1954).

[2] *A. E. R. Westman, A. E. Scott* und *J. T. Pedley*, Chemistry in Can. **4**, 35 (1952); Analyt. Chemistry **24**, 1231 (1952); *A. E. R. Westman* und *A. E. Scott*, Nature **168**, 740 (1951).

[3] *H. Grunze, E. Thilo* und *W. Wieker*, S. B. d. dtsch. Akad. Wiss. 1955.

[4] *J. P. Crowther*, Nature **173**, 486 (1954); Analyt. Chemistry **26**, 1383 (1954).

[5] *E. Karl-Kroupa*, Analyt. Chemistry **28**, 1091 (1956).

[6] *T. Ando, J. Ito, Sh. Ishi* und *T. Soda*, Bull. Chem. Soc. Japan **25**, 78 (1952); *C. F. Callis, J. R. Van Wazer* und *J. N. Shoolery*, Analyt. Chemistry **28**, 269 (1956); *K. W. Gerritsma* und *J. C. Frederiks*, Chem. Weekbl. **51**, 197 (1955); *W. H. Longenecker*, Analyt. Chemistry **21**, 1402 (1949); *K. Gassner, W. Kiekebusch* und *K. Lang*, Biochem. Z. **328**, 485 (1957).

[7] *W. Köberlein* und *H. Mair-Waldburg*, Z. Lebensmittel-Unters. u. -Forschung **102**, 231 (1955); *R. Grau, R. Hamm* und *A. Baumann*, Fleischwirtschaft **1953**, 78; Angew. Chem. **65**, 242 (1953); *J. Peltzer*, Mitteilungsbl. d. GDCh Fachgruppe Lebensmittelchemie und gerichtl. Chemie **11**, 2 (1957); *K. Gassner* und *G. Ender*, Dtsch. Lebensmittelrdsch. (im Druck); *K. Gassner*, Vortrag zum Symposion „Kondensierte Phosphate in Lebensmitteln" 6. April 1957, Physiol.-chem. Inst. Universität Mainz.

[8] *W. Dewald* und *H. Schmidt*, J. prakt. Chem. (4) **2**, 196 (1955); *R. Pfanstiel* und *R. K. Iler*, J. Amer. Chem. Soc. **74**, 6059 (1952); *U. P. Strauß, E. H. Smith* und *P. L. Wineman*, J. Amer. Chem. Soc. **75**, 3935 (1953); *U. P. Strauß* und *E. H. Smith*, J. Amer. Chem. Soc. **75**, 6186 (1953).

[9] *J. R. Van Wazer, E. Karl-Kroupa* und *C. H. Russel*, Manuskript — Monsanto 1954; *J. R. Van Wazer, E. J. Griffith* und *J. F. McCullough*, Analyt. Chemistry **26**, 1755 (1954).

Aus dem Chemischen Institut der Montanistischen Hochschule Leoben

Der Lithiumgehalt österreichischer Salzmutterlaugen*

Von

H. Gamsjäger, H. Ornig und **E. Schwarz-Bergkampf**

(Eingegangen am 15. Mai 1957)

Weiter zurückliegende Untersuchungen an österreichischen Salinenprodukten[1] und deren Analyse führten zur Entdeckung eines kleinen Lithiumgehaltes in den angereicherten Mutterlaugen dieser Salzsolen. Die erhebliche technische Bedeutung dieses Metalles und das wachsende Interesse an einer rationellen Aufarbeitung der Nebensalze veranlaßten uns, eine zweckmäßige Bestimmungsmethode für diesen Lithiumgehalt auszuarbeiten.

Für die vorhandenen kleinen Lithiummengen empfiehlt sich eine spezielle Methode, wobei keine allzu hohe Genauigkeit angestrebt werden muß und wofür in erster Linie die schon mehrfach verwendete Flammenphotometrie in Betracht kam[2]. Mit dieser Methode ist man bei höherem apparativem Aufwand imstande, kleine Lithiummengen in besonders kurzer Zeit zu bestimmen, was sonst nur in wesentlich längerer Zeit mit analytischen Spezialreagenzien (KJO_4)[3] oder mit anderen analytischen Spezialverfahren (Alkoholextraktion der Chloride[4] oder Ionenaustausch[5]) möglich wäre.

Für die Durchführung der nachstehenden Arbeit stand ein Spektralphotometer Beckman, Modell B, mit Flammenphotometriezusatz zur Verfügung. Es zeigte sich, daß die fraglichen Gehaltsanteile an Lithium in der Größenordnung von 5 bis 50 mg/l lagen, was etwa 0,0015 bis 0,015% des Trockenrückstandes entspricht. Nun würde an sich die Empfindlichkeitsgrenze des erwähnten Gerätes für Lithium zu einer direkten Bestimmung dieser Mengenverhältnisse ausreichen, leider ist es aber nicht möglich, so konzentrierte Salzlösungen direkt zu zerstäuben, da sich dabei der Brenner sofort verstopft. Eine Verdünnung der Probe-

* Herrn Professor Dr. *H. Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

lösungen mit Wasser auf erträgliche Salzkonzentrationen verbietet sich, weil dann der Lithiumgehalt mit diesem Instrument nicht mehr genügend genau erfaßt werden könnte. Eine Abtrennung des störenden Salzgehaltes ist aber nach dem bekannten Verfahren mit Chlorwasserstoff gut möglich[4].

Experimentelles

Alle angeführten Meßwerte wurden mit dem Beckman-Spektralphotometer, Modell B, erhalten. Es wurde eine Wasserstoff-Sauerstoff-Flamme verwendet, wobei der Sauerstoffdruck 0,70 at und der Wasserstoffdruck 0,28 at betrug. Das Gerät war mit einer rotempfindlichen Photozelle 12319 ausgerüstet.

Da die Anteile an Fremdsubstanzen in der vom Großteil des Natriumchlorides durch Chlorwasserstoff befreiten Analysenlösung nicht völlig reproduzierbar und eine jeweilige gesonderte Vollanalyse überaus mühselig ist, wurde von vorneherein auf ein Standard-Zumischverfahren (Internal-Standard)[6] hingearbeitet. Zu diesem Zweck wurden zunächst Eichlösungen von reinem Lithiumchlorid (100, 80, 60, 40, 20, 10, 5 mg Lithium/l) hergestellt. Hierauf wurden jeweils 2 ml dieser Standardlösungen und 2 ml Wasser in den Probebecher pipettiert, gut gemischt, zerstäubt und die Intensitäts-Konzentrationskurve bei 671 mμ aufgenommen. Der Spalt wurde so eingestellt, daß die Lösung mit höchster Konzentration, im folgenden als Haupteichlösung bezeichnet, eine Ablesung von 50 bzw. 25 Skalenteilen ergab.

Tabelle 1

μg Lithium 4 ml	abgelesene Skalenteile	
	bei 50% Durchlässigkeit	bei 25% Durchlässigkeit
200	50,0	25,0
160	39,0	19,5
120	29,0	14,5
80	20,5	10,0
40	11,0	5,0
20	5,5	2,5
10	3,0	1,5

Tabelle 2

μg Lithium 4 ml	abgelesene Skalenteile	
	bei 50% Durchlässigkeit	bei 25% Durchlässigkeit
200	50,0	25,0
160	42,0	20,0
120	34,5	15,5
80	24,5	11,0
40	16,5	6,5
20	12,0	4,0
10	10,0	3,0
0	7,0	1,5

Trägt man die in Tabelle 1 angeführten Ablesungen gegen die zugehörigen Lithiummengen auf, so erhält man zwei Gerade, die durch den Nullpunkt gehen.

Für die nächste Versuchsreihe wurde eine Modellösung hergestellt, die etwa die Zusammensetzung einer Probelösung nach der Chlorwasserstoffbehandlung hat. Es wurden 26,9 g Natriumchlorid, 74,1 g Magnesium-

Tabelle 3 (Sole-Modellösung)

λ in mμ	abgelesene Skalenteile	
	bei 50% Durchlässigkeit	bei 25% Durchlässigkeit
600	nicht mehr ablesbar	44,0
610	nicht mehr ablesbar	5,0
620	20,0	6,0
630	14,5	4,5
640	11,0	2,5
650	8,0	2,0
660	6,0	2,0
670	6,0	2,0
680	6,0	2,0
690	6,0	2,0
700	7,0	2,0
710	9,5	2,0
720	17,0	3,0
730	nicht mehr ablesbar	5,0
740	nicht mehr ablesbar	14,0
750	nicht mehr ablesbar	nicht mehr ablesbar

chlorid ($MgCl_2 \cdot 6\ H_2O$), 2,2 g Calciumchlorid (75% $CaCl_2$), 22,6 g Kaliumsulfat, 1,5 g Kaliumchlorid, 1,2 g Kaliumbromid mit zirka 1-n Salzsäure zu einem Liter gelöst. Jeweils 2 ml Modellösung wurden mit 2 ml Wasser bzw. Eichlösung zerstäubt. Der Spalt wurde so eingestellt, daß sich für die Mischung der Modellösung mit der Haupteichlösung eine Ablesung von 50 bzw. 25 Skalenteilen bei 671 mμ ergab. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

Diese Werte ergeben eine hinreichend lineare Kurve, die aber nicht mehr durch den Koordinatenursprung verläuft. Der Flammenuntergrund wird durch den Zusatz an Modellösung angehoben.

Um die Art des Flammenuntergrundes und die Möglichkeit seiner Ausschaltung zu studieren, wurden die Lichtintensitäten sowohl der reinen, in der beschriebenen Art mit Wasser verd. Modellösung als auch die Intensitäten der Haupteichlösung im Wellenbereich von 600 bis 750 mμ bestimmt (Tabelle 3 und 4).

Tabelle 4 (Li-Haupteichlösung)

λ mμ	abgelesene Skalenteile	
	bei 50% Durchlässigkeit	bei 25% Durchlässigkeit
600	0	0
610	0	0
620	0	0
630	0	0
640	1,0	0
650	15,0	0
660	33,0	7,5
670	50,0	25,0
680	43,0	19,0
690	27,0	3,0
700	11,0	0
710	1,0	0
720	0	0
730	0	0
740	0	0
750	1,0	0

Aus den Werten der Tabellen 3 und 4 geht die Art des Flammenuntergrundes sowie der Wellenlängenbereich, in dem der Monochromator bei verschiedener Spaltbreite für das Lithiumlicht durchlässig ist, eindeutig hervor.

Auf Grund dieser Ergebnisse läßt sich erwarten, daß eine Lithiumbestimmung unter den angegebenen Bedingungen bei der größten Spaltbreite ungeachtet der höheren Empfindlichkeit auf erhebliche Schwierigkeiten stößt. Benutzt man nämlich zur Bestimmung des Flammenuntergrundes die Wellenlängen 645 mμ oder 705 mμ, so wird in Folge der noch immer vorhandenen Durchlässigkeit für Lithiumlicht ein zu hoher Flammenuntergrund auftreten. Rückt man noch weiter von der Lithiumemission bei 671 mμ ab, so erhält man gleichfalls einen zu hohen Flammenuntergrund, weil auf der Seite der kleineren Wellenlängen bereits Calcium- bzw. Natriumlicht auf die Photozelle trifft, während bei 710 mμ bereits das Kalium stört.

Dieser Befund wurde durch die folgende Versuchsreihe bestätigt. In der angeführten Modellösung wurde Lithiumcarbonat entsprechend 15 (x) bzw. 20 (y) mg Lithium pro Liter gelöst. Davon wurden jeweils 2 ml mit 2 ml aqua dest. bzw. mit 2 ml Lithiumeichlösungen von 5, 10 und 20 mg Lithium pro Liter gemischt und die Emission bei 671 mμ bestimmt. Die Spaltbreite wurde auf 50% Durchlässigkeit mittels der Haupteichlösung eingestellt (Tabelle 5 und 6).

Tabelle 5

μg Lithium 4 ml	abgelesene Skalenteile bei 671 mμ	Untergrund bei 645 mμ
x	12,5	9,0
$x + 10$	15,0	9,0
$x + 20$	17,0	10,0
$x + 40$	21,0	9,5

Tabelle 6

μg Lithium 4 ml	abgelesene Skalenteile	
	bei 671 mμ	bei 645 mμ
y	15,0	9,5
$y + 10$	17,0	10,0
$y + 20$	19,5	10,0
$y + 40$	24,0	10,0

Legt man nun durch die erhaltenen Punkte eine Gerade und extrapoliert diese bis zu dem gemessenen Untergrund, so erhält man bei dem weiten Spalt, wie zu erwarten ist, zu geringe Werte für x und y. Extrapoliert man aber bis zu dem früher an der reinen Modellösung bestimmten Wert (6,0 Skalenteile), werden die Werte erst richtig.

Die nächsten Kontrollversuche wurden mit 2 ml Modellösung der oben erwähnten Zusammensetzung und einem Lithiumgehalt von 40 (x) bzw. 45 (y) mg Lithium pro Liter durchgeführt. Die Spaltbreite wurde mit der Haupteichlösung aber nur auf 25% Durchlässigkeit eingestellt, der Untergrund wurde bei 650 mμ bestimmt. Als Additionseichlösungen dienten 2 ml Lithiumlösungen mit einem Gehalt von 20, 35, 50 mg Lithium pro Liter (Tabelle 7 und 8).

Tabelle 7

µg Lithium/4 ml	abgelesene Skalenteile bei 671 mµ		bei 650 mµ
x	12,0	$\leftarrow \Delta = 9{,}5 \rightarrow$	2,5
$x + 40$	17,0	$> 5{,}0$	2,5
$x + 70$	21,0	$> 4{,}0$	2,5
$x + 100$	25,0	$> 4{,}0$	2,5

$$x = \frac{9{,}5}{2} \cdot \frac{40}{5{,}0} = 38 \text{ mg Li/l}; \quad \frac{9{,}5}{2} \cdot \frac{30}{4{,}0} = 36 \text{ mg Li/l}.$$

Tabelle 8

µg Lithium/4 ml	abgelesene Skalenteile bei 671 mµ		bei 650 mµ
y	14,0	$\leftarrow \Delta = 11{,}5 \rightarrow$	2,5
$y + 40$	19,0	$> 5{,}0$	2,5
$y + 70$	23,0	$> 4{,}0$	2,5
$y + 100$	27,0	$> 4{,}0$	2,5

$$y = \frac{11{,}5}{2} \cdot \frac{40}{5{,}0} = 46 \text{ mg Li/l}; \quad \frac{11{,}5}{2} \cdot \frac{30}{4{,}0} = 43 \text{ mg Li/l}.$$

Wenn man in bekannter Weise auf den Untergrund extrapoliert, findet man im Mittel 37 mg Lithium pro Liter bzw. 44,5 mg Lithium pro Liter, was in guter Übereinstimmung mit den angewendeten Mengen steht. Daraus ergibt sich, daß man nur mit einer engen Spalteinstellung nach dem Standard-Zumischverfahren brauchbare Ergebnisse erhalten kann.

Damit war die Grundlage des Verfahrens geschaffen bzw. gesichert, nach dem schon früher und auch jetzt die Mutterlaugen der österreichischen Salinen auf Lithium untersucht wurden. Die Ergebnisse seien interessehalber hier wiedergegeben.

Salz-Mutterlaugen	Lithiumgehalt g/l	Lithiumgehalt % der Trockensubstanz
April 1953 aus Hall i. T. (Thermokompression)	0,049	0,014
Februar-März 1955 aus Aussee (Pfannenbetrieb)	0,014	0,0035
Februar 1956 aus Hallein (Thermokompression)	0,037	0,010
Mai 1956 aus Bad-Ischl (Pfannenbetrieb nach 2 Wochen)	0,008	
Juni 1956 aus Bad-Ischl (Pfannenbetrieb nach 3 Wochen)	0,013	
Juli 1956 aus Hallstatt (Pfannenbetrieb)	0,008	
Januar 1957 aus Ebensee (Vakuumverdampfung)	0,009	
Januar 1957 aus Ebensee (Thermokompression)	0,007	

Zusammenfassung

Der Lithiumgehalt von Salzmutterlaugen läßt sich flammenphotometrisch nach Abscheidung des Kochsalzes mit Chlorwasserstoffgas ermitteln. Hiezu dient ein einfaches Eichverfahren auf der Grundlage der Zumischung bekannter Lithiummengen, entsprechend einem Internal-Standard-Verfahren. Resultate der Untersuchung österreichischer Salinen-Mutterlaugen zeigen die Brauchbarkeit der Methode.

Summary

The lithium content of brine mother liquors may be determined by the flame photometer after the sodium chloride has been removed by means of hydrogen chloride gas. A simplified calibrating process is used, based on the addition of known amounts of lithium corresponding to an internal standard procedure. The usability of these methods is demonstrated by the results of the investigation of Austrian saltworks mother liquors.

Résumé

La teneur en lithium d'eaux mères de salines peut être déterminée par photométrie de flamme, après séparation du chlorure de sodium par action de l'acide chlorhydrique gazeux. A cette fin, on met en œuvre une technique d'étalonnage très simple reposant sur l'addition de quantités connues de lithium ayant effet d'étalon interne. Les résultats des recherches effectuées sur les eaux-mères de salines autrichiennes ont montré l'intérêt de la méthode.

Literatur

[1] *E. Schwarz-Bergkampf*, Berg- u. hüttenmänn. Mh. **93**, 15 (1948).

[2] *R. Herrmann*, Flammenphotometrie. Berlin: Springer-Verlag. 1956; *P. W. Sykes*, Analyst **81**, 283 (1956); zitiert nach Z. analyt. Chem. **156**, 60 (1957).

[3] *L. B. Rogers* und *E. R. Caley*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **15**, 209 (1943); *F. R. Bacon* und *D. T. Starks*, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **17**, 230 (1945); Ind. Eng. Chem. **42**, 9 (1950).

[4] *W. D. Treadwell*, Kurzes Lehrbuch der analytischen Chemie, 2. Bd. Quantitative Analyse. Wien: F. Deuticke. 1946.

[5] *U. Schindewolf*, Angew. Chem. **69**, 226 (1957); zitiert nach Z. analyt. Chem. **155**, 452 (1957).

[6] *T. J. Chow* und *T. G. Thompson*, Analyt. Chemistry **27**, 18, 910 (1955); *S. Fukushima, M. Shigemoto, I. Kato* und *K. Otozai*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 35; *S. Fukushima, K. Takahashi, S. Terasaka* und *K. Otozai*, Mikrochim. Acta [Wien] **1957**, 183.

Aus dem Biochemischen Laboratorium des Zoologischen Institutes der Universität Graz

Ein kleiner Vakuum-Umlaufverdampfer*

(Kurze Mitteilung)

Von

F. Petuely und **N. Meixner**

Mit 1 Abbildung

(Eingegangen am 18. März 1957)

Bei der Auftrennung geringer Mengen empfindlicher Substanzen auf Chromatographiersäulen oder in Gegenstromverteilungsapparaturen wird man oft vor die Notwendigkeit gestellt, große Flüssigkeitsvolumina, die nur Milligramme der gesuchten Substanz enthalten, auf ein sehr geringes Volumen schonend einzuengen. Hierfür benötigt man zu Beginn relativ große Apparaturen und muß zuletzt auf Mikroapparaturen übergehen. Dies erfordert einigen Arbeitsaufwand und außerdem geht Substanz verloren. Wir haben daher einen Umlaufverdampfer konstruiert, mit dem große Flüssigkeitsmengen rasch und schonend zu verdampfen sind und dessen Umlaufsystem dennoch ein sehr geringes Volumen besitzt. Bei den gebräuchlichen Umlaufverdampfern, wie sie z. B. die Firma Schott u. Gen. herstellt, ist das Umlaufvolumen sehr groß und überdies unveränderlich, wodurch solche Apparate einer dauernden Beaufsichtigung bedürfen. Sie sind für die angegebenen Aufgaben nicht verwendbar.

Wir haben daher in das Umlaufsystem (s. Abb. 1) das Vorratsgefäß *B* eingefügt. Dieses kann bis zur Hälfte mit Flüssigkeit gefüllt werden, ohne daß der Verdampfungsvorgang eine Störung erfährt. Erst wenn der Spiegel bis zum Punkt *E* abgesunken ist, muß wiederum aus dem Gefäß *K* Flüssigkeit nachgegeben werden. Wichtig für das Funktionieren der Apparatur ist die Rinne *R*, die eine Verlängerung des tangential an das Gefäß *B* angesetzten Rohres $\dot{U}$ darstellt. Durch diese Rinne läuft die aus $\dot{U}$ kommende Flüssigkeit mit großer Geschwindigkeit in das

* Herrn Univ.-Prof. Dr. *Hans Lieb* zum 70. Geburtstag gewidmet.

absteigende Umlaufrohr U, wodurch ein Verspritzen verhindert wird und ein geringes Endvolumen erreichbar ist. Infolge des tangentialen Ansatzes von $\dot{U}$ kommt die im Gefäß B befindliche Flüssigkeit in rasche Drehung. Dadurch wird das Spritzen und eventuelle Schaumbildung vermindert und die Umlaufgeschwindigkeit vergrößert (der Tangentialansatz bei großen Umlaufverdampfern üblicher Bauart wurde erstmalig von der Firma E. Zahradnik, Wien IV, angewendet). Die Beheizung der Apparatur erfolgt über den Ansatz A_1. Hierfür kann Wasserdampf oder eine Heizflüssigkeit verwendet werden. Soll die Destillation besonders schonend verlaufen, wird mit einer kleinen Umlaufpumpe, wie sie z. B. die Firma Paul Haack, Wien, erzeugt, erhitztes Wasser durch das Heizsystem geschickt. Dadurch kann die Temperatur an den beheizten Flächen des Systems V genau auf die gewünschte Höhe eingestellt werden, so daß man auch bei Zimmertemperatur destillieren kann.

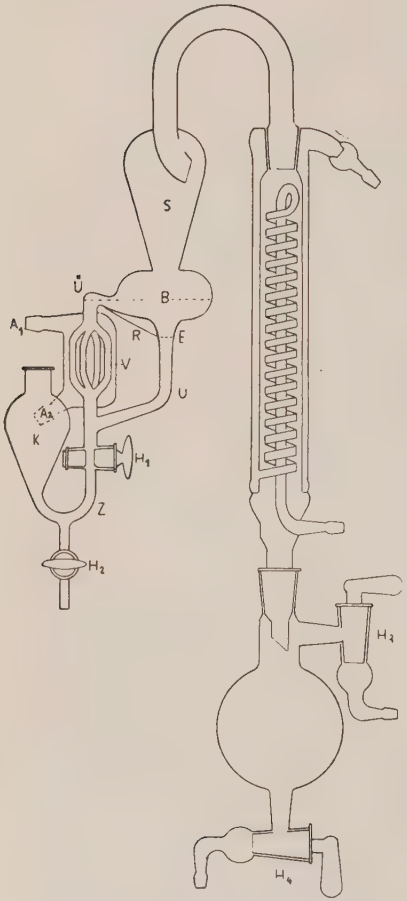


Abb. 1
1/6 der natürlichen Größe

Die Maße des Umlaufsystems sind dem gewünschten Endvolumen anzupassen. Die dargestellte Apparatur erlaubt ein Einengen auf etwa 5 ml, wobei eine Stundenleistung von 250 ml bei wäßrigen Lösungen und bei Beheizung mit Wasserdampf erreicht wird. Bei kleineren Systemen ist das Rohr Z als Kapillarrohr auszubilden und die Anzahl der Rohre V auf eins oder zwei zu reduzieren. Auch Makroapparaturen mit einem Endvolumen bis zu 1000 ml sind analog auszuführen, wobei allerdings Z durch einen Schlauch zu ersetzen ist*.

Bedienung der Apparatur: Es wird bei geschlossenen Hähnen H_1 und H_4 vom Hahn H_3 her evakuiert. Wenn das Endvakuum erreicht ist, wird aus dem Vorratsgefäß K bei geschlossenem Hahn H_2 durch Öffnen von H_1 das System bis zu der in dem Gefäß B eingezeichneten Linie gefüllt, worauf die Beheizung eingeschaltet wird. Die Flüssigkeit beginnt

* Die Apparaturen können von der Firma K. Bartelt, Graz, bezogen werden.

in den Rohren V zu kochen und gerät im Umlaufsystem in Bewegung. Wenn der Spiegel den Punkt E erreicht, wird wiederum Flüssigkeit durch Öffnen des Hahnes H_1 nachgefüllt. Auf diese Weise können beliebige Volumina abdestilliert werden. Die Leistungsfähigkeit richtet sich nach der Größe der Apparatur, nach der Art der Beheizung und der Wirksamkeit des Kühlers. Wenn die Destillation zu Ende geht und der Flüssigkeitsspiegel den Punkt E erreicht hat, wird die Beheizung abgestellt und weiterhin evakuiert. Durch den Wärmeaustausch an der großen Oberfläche der Rohre V geht die Destillation langsam weiter, wodurch in schonender Weise das Endvolumen noch weiter vermindert wird. Zuletzt wird nach Aufheben des Vakuums das Konzentrat nach Öffnen der Hähne H_1 und H_2 abgelassen.

University of California at Los Angeles

Note on the Polarography of Carbonyl Compounds

By

William R. Crowell

(Received January 2, 1957)

In a forthcoming issue of the Journal of the American Chemical Society will appear an article entitled "Polarography of Carbonyl Compounds. III. Semiempirical and Empirical Relationships between Structures and Half-wave Potentials" under the authorship of *Dale M. Coulson, William R. Crowell* and *S. Kathleen Tendick*. While this work is a marked departure from the past offerings of one of these authors in Mikrochimica Acta, it is hoped that it may be of some interest to our distinguished colleague, Dr. *Hans Lieb*, as well as our other Mikrochimica Acta friends. Therefore we present the following brief summary. In line with work previously reported in two articles in the Journal of the American Chemical Society[1] (Polarography of Carbonyl Compounds I and II) the present investigation deals with an attempt to show the relationship between the structures and half-wave potentials of *ortho*, *meta* and *para* substituted benzaldehydes and acetophenones in 50% dioxane solutions. Two series of equations expressing this relationship are derived. The first series is based on the linear combination of atomic orbitals — molecular orbital theory, and the second series involves Hammett's sigma constants. Experimental results compare very favorably with those calculated by these equations as well as those based on the free-electrongas theory.

[1] *D. M. Coulson* and *W. R. Crowell*, J. Amer. Chem. Soc. **14**, 1290, 1294 (1952).

Mitteilungen aus chemischen Gesellschaften

The Society for Analytical Chemistry

Annual General Meeting

The eighty-third Annual General Meeting of the Society was held on Friday, March 1st, 1957, in the Meeting Room of the Royal Society, Burlington House, London W. 1, with the President, Dr. *K. A. Williams*, B. Sc., A. Inst. P., M. Inst. Pet., F. R. I. C., in the Chair. The Financial Statement and the Report of the Council for the past year were submitted and approved, and the Auditors were appointed.

Summary of Annual Report

The membership of the Society at the date of the meeting was 1870, an increase of 28 compared with the corresponding figure a year ago. During the year the Society has held six Ordinary Meetings in London (one of which was organised by the Microchemistry Group) and a Joint Meeting with the Food Group of the Society of Chemical Industry. In addition, the Society's Sections and Groups held 35 meetings.

The activities of the Analytical Methods Committee increased rapidly during the year. The A. B. C. M.-S. A. C. Joint Committee on Methods for the Analysis of Trade Effluents has published a number of Methods, and a new Joint Committee with the Pharmaceutical Society for the investigation of Methods of Assay of Crude Drugs has formed panels and begun its work.

Towards the end of 1956, the Society moved to its present offices, a self-contained suite on the top floor of the Society of Chemical Industry's new premises. The great increase in convenience to all the staff is only one of the many reasons the Society has for gratitude to the Society of Chemical Industry.

Election of Officers

The following Officers and Members of Council were elected for the forthcoming year. *President: J. H. Hamence*; *Past Presidents serving on the Council: D. W. Kent-Jones, J. R. Nicholls, G. Taylor* and *K. A. Williams*; *Vice-Presidents: N. L. Allport, J. Haslam* and *A. A. Smales*; *Honorary Treasurer: A. J. Amos*; *Honorary Secretary: R. E. Stuckey*; *Honorary Assistant Secretary: S. A. Price. Other Members of Council: D. C. M. Adamson, S. G. Burgess, R. C. Chirnside, W. Cule Davies, D. C. Garratt, H. M. N. H. Irving, E. Q. Laws, D. D. Moir, F. C. J. Poulton, J. G. Sherratt* and *A. F. Williams.*

Ex-officio Members: A. N. Leather (Chairman of the North of England Section), *Magnus A. Pyke* (Chairman of the Scottish Section), *P. J. C. Haywood* (Chairman of the Western Section), *R. Belcher* (Chairman of the Midlands

Section), *D. F. Phillips* (Chairman of the Microchemistry Group), *J. E. Page* (Chairman of the Physical Methods Group) and *S. K. Kon* (Chairman of the Biological Methods Group).

In installing the President Elect in the Chair, Dr. *Williams* reminded members that they had chosen a man who was no newcomer to office, having served for eight years as Honorary Treasurer. Dr. *Hamence* then took the Chair and called on the retiring President to deliver his Presidential Address.

Dr. *Williams* during his address briefly traced the history of the Society. He said that, although during the first half of the Society's life its Presidents in their addresses had mainly concerned themselves with the means of suppression of adulteration of food, after the first World War Presidents had begun to turn their attention to other matters. *Chaston Chapman* had been one of the first to turn from the topic of food, and he had chosen as his subject the training of the analytical chemist. The manner in which members could advance the credit of the profession in the eyes of the public was also dealt with, notably by *E. R. Bolton*. About the same time the burden on the President of speaking formally at the end of each of two successive years of office had been eased by the introduction of lectures in alternate years by distinguished guests. The background to the earlier preoccupation with food adulteration had been the growth of chemical knowledge, which had led to a multitude of subtle methods of adulteration. This in turn had led to the development of the analytical chemistry of food and drugs and, after *Hassall* and *Lethaby* had conducted their Analytical Sanitary Commission in 1850 and after the report of a Select Parliamentary Committee, had resulted in the passing of the first Adulteration Act of 1860. Surprisingly, opposition had been offered to *Hassall* and his colleagues, and the Act became a dead letter. It had been superseded in 1872 by a new Act, and in the atmosphere of this new Act the Society had been formed.

The early accounts in the Council Minutes, which had been preserved complete, showed the earnestness of the Society's members. They even showed one unique occasion when an excess of zeal led to the resignation of the President and Honorary Treasurer, although this breach in the ranks, the only one in the Society history, had soon been healed.

The friendliness of the Society had always been notable. On a personal note, Dr. *Williams* told how he had first come to know the Society at the outset of his career on entering the laboratory of *E. R. Bolton*, then the Honorary Secretary. He had soon found the friendly help that was given to all who wanted it, particularly to the younger members. Despite its growth, the Society had remained as sympathetic and helpful as ever to young chemists.

Meetings had always been well attended. Thirty-five years ago, with a membership of about 450, nearly one-tenth of the whole Society used to come to them. Then, as now, meetings had been held in the Chemical Society's rooms, an arrangement that had existed since 1876.

In this period the interests of the Society were greatly extended to other branches of analytical chemistry besides food and drugs. From this time, too, the Presidential Addresses were concerned with the widest aspects of the subject.

In the years between the Wars, "The Analyst", under the Editorship of *C. A. Mitchell*, had taken on an international character. After the second World War, general public interest in science had stimulated the growth of the Society, as well as of the journal, and the three subject groups had

been formed to hold meetings in addition to those held by the Sections, which increased in number to four, and by the Society itself. Eventually meetings had become so popular that sometimes attendances were more than the Chemical Society's rooms could hold. More recently the experiment had been tried of holding meetings addressed by distinguished foreign chemists — and these meetings had filled the Royal Institution and provided what was probably the largest audience today in this country for a chemical lecture.

The President concluded his address by warning that financial stringency would be necessary in the near future: the cost of production of "The Analyst" and "Analytical Abstracts", like all other printed matter, was rising rapidly. To avoid the suppression of anything useful in analysis, papers would have to be streamlined and, if necessary, pruned drastically; some abstracts might well have to be reduced to a little more than titles and references, and other abstracts related in length to the importance of the subject. Only in this way could the journals continue to increase their services to their readers.

Anniversary Dinner

In the evening following the Annual General Meeting, a Dinner to celebrate the eighty-third anniversary of the Society was held, by kind permission of the Masters and Wardens of the Vintners' Company, at Vintners' Hall, Upper Thames Street, London E. C. 4. The members and guests, numbering 102, were received by the President, Dr. *K. A. Williams*, B. Sc., A. Inst. P., M. Inst. Pet., F. R. I. C., and Miss *Mamie Olliver*, M. Sc., F. R. I. C. The President afterwards took the Chair at the Dinner.

The guests of the Society and of the President included The Honourable Mr. *Justice Lloyd-Jacob*, M. A., D. C. L., and Lady *Lloyd-Jacob*; Professor *F. Bergel*, D. F. C., D. Phil., Ph. D., F. R. I. C. (representing The Chemical Society), and Mrs. *Bergel*; *D. W. Kent-Jones*, B. Sc., Ph. D., F. R. I. C. (President of the Royal Institute of Chemistry) and Mrs. *Kent-Jones*; *Julian M. Leonard*, M. I. Chem. E. (President of the Society of Chemical Industry), and Mrs. *Leonard*; *Frank Hartley*, B. Sc., Ph. D., F. P. S., F. R. I. C. (representing the Chemical Council), and Mrs. *Hartley*; *Eric Voelcker*, A. R. C. S., F. R. I. C. (President of the Association of Public Analysts), and Mrs. *Voelcker*; and *Lindsay R. Ring* and Mrs. *Ring*.

The Loyal Toast was proposed by the President.

The Honourable Mr. *Justice Lloyd-Jacob* proposed the Toast of the Society. He expressed his pleasure at doing so in the year that would see the Society's Golden Jubilee as a Company Limited by Guarantee. The Toast of the Society was coupled with the name of the President.

The President, Dr. *Williams*, in replying for the Society, said he had pleasure in announcing that Sir *George Lloyd-Jacob* had agreed to accept Honorary Membership of the Society. Sir George had given the Second Bernard Dyer Memorial Lecture, and was now Chairman of the Society's Analytical Methods Trust. The President added the Society's thanks to the Master and Wardens of the Vintners' Company for permitting them to use their fine Hall.

Dr. *A. J. Amos* proposed the Toast of the Guests. The Guest of Honour, Mr. *Justice Lloyd-Jacob*, had been connected with the Society for some five years in many ways. Also present was Mr. *Eric Voelcker*, President of the Association of Public Analysts, an Association very closely linked with the Society. Representatives of the three Chartered Societies were present:

Professor *Bergel*, an Honorary Secretary of the Chemical Society (deputising for the President), Dr. *Kent-Jones*, President of the Royal Institute of Chemistry and Past President of this Society, and Mr. *J. Leonard*, President of the Society of Chemical Industry. He was glad to see that Mr. *Leonard*, although still encased in plaster, was recovering from his recent spinal operation. Dr. *Frank Hartley*, in representing the Chemical Council, also represented the chemical industry. Last but not least, the Ladies were very welcome guests, bringing charm, colour and gaiety to the gathering. The Toast of the Guests was coupled with the name of Dr. *Kent-Jones*.

Dr. *Kent-Jones* replied for the guests, and said how pleased he was to be replying to a toast proposed by his business partner, particularly as this was the Silver Jubilee year of their partnership.

The President then thanked the retiring officers for their services and welcomed the new officers. He invested Dr. *J. H. Hamence*, the new President, with the Presidential Badge, and wished him success during his tenure of the office. Dr. *Hamence* returned thanks, and presented Dr. *Williams* with a replica of the Society's badge to wear as Past President.

Dr. *Williams* led a round of applause for Miss *Mamie Olliver*, who had so ably supported him during the reception and dinner.

Annual General Meeting of the North of England Section

The Thirty-second Annual General Meeting of the North of England Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 2.15 p. m. on Saturday, January 26th, 1957, at the Engineers' Club, Albert Square, Manchester, under the Chairmanship of Mr. *J. R. Walmsley*, A. M. C. T., F. R. I. C., F. P. S.

The following were elected Officers of the Section for the forthcoming year:

Chairman: Mr. *A. N. Leather.*
Vice-Chairman: Dr. *J. R. Edisbury.*
Hon. Secretary & Treasurer: Mr. *A. C. Wiggins*, J. Lyons & Co., Ltd., 5 Laurel Road, Liverpool, 7.

The Annual General Meeting was followed by an Ordinary Meeting of the Section at which the following paper was presented and discussed:

"*Recent Advances in the Analysis of Fertilizers*", by *H. N. Wilson*, F. R. I. C. (I. C. I. Ltd., Billingham).

The lecturer reviewed the present methods of analysing fertilizers for nitrogen, phosphate and potash, emphasising recent developments. It was not restricted to the "statutory methods", but included references to colorimetric or physical methods which, in the lecturer's experience, have proved themselves valuable in recent years.

An Ordinary Meeting of the North of England Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 2.15 p. m. on Saturday, March 16th, 1957, at the City Laboratories, Mount Pleasant, Liverpool, 3. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *A. N. Leather*, B. Sc., F. R. I. C.

Owing to the indisposition of the intended speaker, a paper entitled "The Composition of Exhaust Gases" was read by Dr. *A. Fitton*, M. I. Chem. E.

A discussion on this paper and on the more general aspects of atmospheric pollution followed.

Ordinary Meetings of the Western Section

An Ordinary Meeting of the Western Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 6.30 p. m. on Friday, February 22nd, 1957, at the College of Technology, Ashley Down, Bristol. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *P. J. C. Haywood*, B. Sc., F. R. I. C.

A lecture was given on:

"The Oxygen Demand of Trade Effluents with respect to River Pollution", by *C. J. Regan*, B. Sc., F. R. I. C. (Briarlea, 3 Beechwood Avenue, Brighton, 6).

The formulation of standard methods of analysis for aqueous liquids of different degrees of impurity was first considered.

The importance of the oxygen demand was then emphasised particularly in regard to trade effluents, and in relation to river pollution. It is essentially, in this regard, a biochemical question since the ultimate purification of the organic matter is a biological process.

Apart from the theoretical calculation which can be made of the Ultimate Oxygen Demand (U. O. D.) from a knowledge of the organically combined elements present three methods of assessing the oxygen demand of a trade effluent were briefly described.

1. Absorption from acid Potassium Permanganate.
2. Absorption from acid boiling Potassium Dichromate.
3. Biochemical Oxygen Demand.

These are the tests recommended by the Panel of the Joint Committee of the Association of British Chemical Manufacturers and Society for Analytical Chemistry now sitting.

The advantages and difficulties of each of these was described.

The second one was a new feature in British practice and received special attention as did also the Manometric (or Respirometric) procedure for Biochemical Oxygen Demand determination.

The difficulties which arise in applying these tests to Trade Effluents was touched on and stress was laid on the need for care in interpreting results.

An Ordinary Meeting of the Western Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 6.30 p. m. on Friday, March 15th, 1957, at the Chemistry Lecture Theatre, University College, Swansea. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *P. J. C. Haywood*, B. Sc., F. R. I. C., and the following paper was presented and discussed:

"Some Recent Developments in Metallurgical Analysis" by *G. W. C. Milner*, M. Sc., A. Inst. P., F. R. I. C. (A. E. R. E. Harwell).

Some of the newer techniques which are proving useful in this branch of analytical chemistry were described. These included complexometric titrations, coulometric titrations, square wave polarography, radioactivation analysis and ion-exchange separations.

Ordinary Meetings of the Scottish Section

An Ordinary Meeting of the Scottish Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7.15 p. m. on Friday, February 22nd, 1957, in the Central Hotel, Glasgow. The Chair was taken by the Vice-Chairman of the Section, Mr. *A. N. Harrow*, A. H-W. C., F. R. I. C., and the following paper was presented and discussed:

"Some Recent Developments in Analytical Chemistry" by *R. Belcher*, Ph. D., D. Sc., F. R. I. C. (Department of Chemistry, University of Birmingham).

Developments in classical methods of analysis made during the past two years or so, may be grouped under the following headings: primary standards, indicators (acid-base, redox and complexometric), new reagents (precipitants and colourimetric), new titrants and advances in well-established methods. Some of the new recommendations have interesting and unusual features; their properties and possible applications were discussed.

An Ordinary Meeting of the Scottish Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7 p. m. on Wednesday, March 13th, 1957, in the George Hotel, George Street, Edinburgh. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Dr. *Magnus Pyke*, F. R. I. C., F. R. S. E., and the following papers were presented and discussed:

"Some Aspects of the Estimation of Uronic Acid in Carbohydrate Materials" by *D. M. W. Anderson*, B. Sc., Ph. D., A. R. I. C. (Dept. of Chemistry, University of Edinburgh).

Details were given of an apparatus designed to facilitate routine quantitative determinations of uronic acid by the classical decarboxylation method of *Lefevre* and *Tollens*. The results of recent infra-red analyses of the decomposition products of the reaction and of kinetic studies carried out in an attempt to improve the accuracy of the method by suppression of certain undesirable side-reactions were presented.

"The Routine Semi-Micro Determination of Molecular Weights" by *J. Brooks*, M. A., and *A. F. Williams*, B. Sc., F. R. I. C. (Research Dept., Imperial Chemical Industries Ltd., Nobel Division, Stevenston, Ayrshire).

Routine methods were described for the determination of molecular weights using ebulliometric and cryoscopic procedures. The ebulliometric method is based on that originally described by *Ray* [Trans. Farad. Soc., **48**, 809 (1952)]. The cryoscopic procedure has been adapted from that described by *Hervey* [Analyst, **80**, 284 (1955)], for the measurement of freezing points. Both systems involve differential thermoelectric measurements. The two methods are complementary in that the ebulliometric method is satisfactory only for non-aqueous solutions whereas the cryoscopic method is used for aqueous solutions.

The precautions which are necessary in the interpretation of results obtained by the cryoscopic method were discussed.

Annual General Meeting of the Midlands Section

The Second Annual General Meeting of the Midlands Section of the Society for Analytical Chemistry was held at 7 p. m. on Thursday, January 24th, 1957, in the Gas Showrooms, Nottingham. The Chair was taken by the Chairman of the Section, Mr. *J. R. Leech*, J. P.

The following were elected Officers of the Section for the forthcoming year:

Chairman: Dr. *R. Belcher.*

Vice-Chairman: Dr. *S. H. Jenkins.*

Honorary Secretary: Mr. *G. W. Cherry*, 48 George Frederick Road, Sutton Coldfield, Warwickshire.

Honorary Treasurer: Mr. *F. C. J. Poulton.*

The Annual General Meeting was followed immediately by a short ordinary meeting. The Chairman of the Section, Dr. *Belcher*, spoke on "Some Contradictions and Discrepancies Concerning a Classical Method of Analysis". The Vice-Chairman, Dr. *Jenkins*, was in the Chair.

Société de chimie industrielle

Groupe de la chimie analytique

Compte-rendu de la séance du 10 janvier 1957

Président: Mr. *Cl. Duval.*
Président du Groupe: Mr. *Roger.*
Secrétaire: Mr. *Meraux.*

Le Professeur *Clément Duval*, Président, ouvre la séance à 17 h 30 en présentant les vœux de la Société de Chimie Industrielle aux personnes présentes et à tous les adhérents du Groupe de la Chimie Analytique.

Il passe aussitôt la parole à Mr. *Muraire*, Ingénieur-Chimiste au Laboratoire de la S. N. C. F. sur la recherche qualitative et le dosage du Potassium par le tétraphénylborate de sodium.

C'est à *Wittig* et ses collaborateurs que sont dues les premières études sur les complexes métalliques de l'ion tétraphénylbore $[(C_6H_5)_4B]$. Mr. *Muraire* rappelle les différentes propriétés de ces complexes avec les métaux alcalins. Il insiste sur la particulière insolubilité du tétraphénylborate de potassium qui permet de précipiter le potassium dans une solution de perchlorate de potassium très diluée. On peut ainsi déceler jusqu'à $5 \cdot 10^{-6}$ g de K.

Le réactif est une solution aqueuse à 1,5% de tétraphénylborate de Na dont on supprime l'opalescence par filtration avec de l'alumine hydratée ou de la pulpe de papier filtrée.

Mr. *Muraire*, commente différents points de la méthode: nécessité d'un excès de réactif, introduction lente du réactif, acidité minima requise pour obtenir un précipité aisément filtrable, durée de repos avant filtration, lavage du précipité, durée de séchage.

Il souligne l'absence d'influence de la plupart des ions usuels Cl^-, NO_3^-, SO_4^{2-}, ClO_4^-, Fe^{2+}, Fe^{3+}, Ca^{2+}, Mg^{2+}, Ba^{2+}, Al^{3+}.

La précision du dosage est de 0,1%. Le tétraphénylborate d'ammonium étant également insoluble, il est nécessaire de chasser NH_4 avant le dosage par NaOH.

Certains auteurs utilisent des dosages acidimétriques, argentimétriques ou cérimétriques du précipité. Ces méthodes ne semblent présenter d'intérêt que pour les très faibles quantités de K.

Le tétraphénylborate de sodium est un réactif de choix par sa sensibilité. Le dosage du K est simple, rapide est présente un grand intérêt dans de nombreux cas, notamment celui des engrais.

Après l'exposé de Mr. *Muraire*, le Président fait remarquer que le précipité est stable entre 85° et 150°. De plus, outre les différents métaux signalés qui précipitent par le réactif, le Thallium^{I} précipite également ce qui permet d'ailleurs de le séparer du Thallium^{III}.

Mr. *Cl. Duval* donne ensuite la parole à Mr. *Varlan*, Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Supérieure des Beaux-Arts.

On obtient l'étanchéité par deux procédés principaux:
1° Type asphalte.
2° Type multicouche.

Type asphalte:

On dispose: une feuille de papier légère,
une couche de 5 mm d'asphalte pur,
une couche de 15 mm d'asphalte sablé.

Pour l'asphalte pur la teneur en bitume doit être $\geqslant$ à 17% et au moins de 11% dans l'asphalte sablé, pour que le revêtement soit d'une étanchéité efficace.

On contrôle le taux de bitume par dissolution dans le sulfure de carbone.

Type multicouche:

Ici on obtient l'étanchéité en alternant feutre et brai de pétrole. On peut coller ces couches mais Mr. *Varlan* préfère les systèmes indépendants.

La qualité du bitume n'a pas été définie dans les cahiers des charges, ce qui est fâcheux.

Des essais de pénétration et de fragilité ont été effectués avec des bitumes de distillation, à point de ramollissement de 23° et avec des bitumes de distillation à point de ramollissement de 33°.

Suivant les teneurs en maltènes ou en asphaltènes, on se rapproche du sol ou du gel (maltènes: phase continue; asphaltènes: phase discontinue).

Le rapport $\frac{C}{H}$ a une importance primordiale. Si ce rapport est faible, on se rapproche des gels, s'il est élevé on se rapproche des sols.

Dans le premier cas, on a une structure spongieuse plastico-élastique à éléments plus gros que dans le deuxième cas.

Pour étudier l'influence de ce rapport, on a été amené à étudier l'action de CS_2 sur le bitume. On a constaté que contrairement à ce qu'on aurait pu craindre, le point de ramollissement après des temps de contact croissants, ne varie pas sensiblement.

Nécessité d'une étanchéité *soignée*: on a remarqué que dans le béton soustrait à l'humidité, le retrait devenait plus fort. C'est ainsi que des bâtiments qui avaient parfaitement résisté sans revêtements, ont été par la suite, avec la pensée que cela ne pouvait que donner plus d'étanchéité à l'ouvrage, recouverts d'une mince couche de produit d'étanchéité. Le résultat a été un retrait du béton, d'où fissure, et en raison du revêtement *simplifié*, rapide pénétration de l'eau.

Pour étudier la formation des fissures, Mr. *Varlan* a mis au point un appareil, le fissuromètre, qui permet d'observer l'influence de la fissure sur l'étanchéité. On utilise des éprouvettes de 30 × 5 cm à l'intérieur d'une enceinte pouvant aller de — 20° à + 80°.

Pour l'asphalte, les ramollissements bille-anneau se font avec un anneau de 12 cm et une bille de 10 kg. On pratique aussi l'essai d'implantation *Wilson* où l'on applique une aiguille de 6,35 mm portant une masse de 100 kg pendant une minute à la température de 25°. L'essai est évidemment faussé s'il y a des cailloux, mais de toute façon les résultats ne sont pas toujours reproductibles.

Dans le cas des voûtes, l'étanchéité est obtenue à l'aide d'un système par émulsion: une émulsion légère, une émulsion lourde, une toile de verre. On alterne plusieurs couches. La dernière émulsion est sablée. La nature du sable a une certaine importance (la bentonite gonflerait).

En cuvelage, on utilisera une chappe mortier avec un hydrofuge. On mettra un plastifiant, le lignosulfonate de Na qui se combine au Ca et jouera un rôle de floculent.

Cc : d'une chaudière: avec l'étanchéité asphalte ou multicouche le béton est souvent fissuré. Même avec un isolant thermique, l'isolement est insuffisant. Avec une chaudière dont la température est aux environs de 200° on observe une propagation de la chaleur. A cette température, en régime permanent, aucun matériaux ne résistera. Il faudra: 5 cm d'isolant thermique, puis une rangée de briques percées de trous, et même installer une cheminée qui permet une grande convection. Dans ce cas les gradients de température tombent à 2°/cm.

La séance est levée à 18 h 50.

Herausgeber, Eigentümer und Verleger: Springer-Verlag in Wien, I., Mölkerbastei 5. — Für den Inhalt verantwortlich: Prof. Dr. *Michael Karl Zacherl*, Wien, XIX., Chimanistraße 21.
Druck: Manzsche Buchdruckerei, Wien, IX., Lustkandlgasse 52